

# СОДЕРЖАНИЕ

---

---

Том 62, номер 5, 2022

---

---

## Методология научного поиска

Критерии причинности в медико-биологических дисциплинах: история, сущность и радиационный аспект. Сообщение 4, часть 3: Широта использования критериев в различных дисциплинах и разными организациями

*А. Н. Котеров*

453

---

## Общая радиобиология

Изучение состояния системы крови при контакте необлученных особей с животными, подвергшимися воздействию ионизирующей радиации

*И. И. Пелевина, И. Н. Козарко, Е. А. Пряхин, В. В. Петушкова,  
Б. С. Козарко, Е. А. Нейфах, С. С. Андреев, О. В. Ктиторова, И. И. Ганеев*

477

Влияние ионизирующего излучения на развитие опухолей центральной нервной системы

*М. Б. Мосеева*

484

---

## Молекулярная радиобиология

Влияние оксида дейтерия на экспрессию генов *recA* и *colD*, индуцированную в клетках *Escherichia coli* в результате воздействия УФ-излучения

*С. К. Абилев, С. В. Смирнова, Т. Н. Шапиро*

495

---

## Радиационная биохимия

Влияние поливитаминов на содержание глутатиона и липидных антиоксидантов в плазме крови у людей, подвергшихся воздействию радиации низкой интенсивности

*Г. Ф. Иваненко*

502

---

## Модификация радиационных эффектов

Современные клеточные продукты для лечения костномозговой формы острой лучевой болезни

*Д. П. Белозеров, Н. В. Варламова, П. К. Потапов, О. А. Низовцева,  
А. А. Эсиков, Р. Р. Байкиев, И. В. Маркин, Е. А. Журбин, М. Е. Финогентов*

513

Мелатонин снижает радиационные повреждения селезенки и увеличивает выживаемость при его введении до и после воздействия на мышей рентгеновского излучения

*С. А. Абдуллаев, С. И. Глухов, А. И. Газиев*

523

---

## Неионизирующие излучения

Хитозан и сукцинат хитозана как фотопротекторы для иммобилизованного на их матрице папаина

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

532

---

## Радионуклиды

Накопление  $^{137}\text{Cs}$  лишайниками рода *Cladonia* в зоне влияния Кольской атомной электростанции

*М. Б. Попова, Д. Н. Липатов, Д. В. Манахов, А. Н. Кизеев, С. Ф. Ушамова*

543

---

## Краткое сообщение

Количественный подход к оценке генетической нестабильности дрожжевых клеток

*В. Г. Петин, А. В. Рубанович*

555

---

## Хроника

Памяти Ажуба Ибрагимовича Газиева

559

---

---

---

---

# Contents

---

---

Vol. 62, No. 5, 2022

---

---

## Methodology of Scientific Research

Causal Criteria in Medical and Biological Disciplines: History, Essence and Radiation Aspect. Report 4, Part 3: Breadth of the Use of Criteria in Different Disciplines and Different Organizations

*A. N. Koterov*

453

---

## General Radiobiology

Study of the Disorders of the Blood System of Irradiated and Unirradiated Animals Kept in Contact

*I. I. Pelevina, I. N. Kogarko E. A. Pryakhin, V. V. Petushkova,  
B. S. Kogarko, E. A. Neifakh, S. S. Andreev, O. V. Ktitorova, I. I. Ganeev*

477

The Effect of Ionizing Radiation on the Development of Tumors of the Central Nervous System

*M. B. Moseeva*

484

---

## Molecular Biology

Effect of Deuterium Oxide on *recA* and *colD* Genes Expression Induced by UV Radiation in *Esherichia coli* Cells

*S. K. Abilev, S. V. Smirnova, T. N. Shapiro*

495

---

## Radiation Biochemistry

The Effect of Multivitamins on the Content of Glutathione and Lipid Antioxidants in Blood Plasma in People Exposed to Low-intensity Radiation

*G. F. Ivanenko*

502

---

## Modification of Radiation Effects

Modern Cellular Products for the Treatment of Bone Marrow Form Acute Radiation Syndrome

*D. P. Belozеров, N. V. Varlamova, P. K. Potapov, O. A. Nizovceva,  
A. A. Jesibov, R. R. Bajkiev, I. V. Markin, E. A. Zhurbin, M. E. Finogentov*

513

Melatonin Reduces Radiation Damage to the Spleen and Increases Survival when Administered Before and after Exposure to X-Ray Radiation in Mice

*S. A. Abdullaev, S. I. Glukhov, A. I. Gaziev*

523

---

## Non-Ionizing Radiation

Chitosan and Chitosan Succinate as Photoprotectors for Papain Immobilized on Their Matrix

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

532

---

## **Radionuclides**

Accumulation of  $^{137}\text{Cs}$  by *Cladonia* Lichens in the Impact Zone of the Kola Nuclear Power Plant

*M. B. Popova, D. N. Lipatov, D. V. Manakhov, A. N. Kizeev, S. F. Ushamova*

543

---

## **Brief Messages**

Quantitative Approach to the Assessment of Yeast Cell Genetic Instability

*V. G. Petin, A. V. Rubanovich*

555

---

## **Chronicle**

In Memory of Azhub Ibragimovich Gaziev

559

---

---

---

---

**МЕТОДОЛОГИЯ  
НАУЧНОГО ПОИСКА**

---

---

УДК 167:61:573.01:616.036.22

**КРИТЕРИИ ПРИЧИННОСТИ В МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ  
ДИСЦИПЛИНАХ: ИСТОРИЯ, СУЩНОСТЬ И РАДИАЦИОННЫЙ АСПЕКТ.  
СООБЩЕНИЕ 4, ЧАСТЬ 3: ШИРОТА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КРИТЕРИЕВ  
В РАЗЛИЧНЫХ ДИСЦИПЛИНАХ И РАЗНЫМИ ОРГАНИЗАЦИЯМИ<sup>#</sup>**© 2022 г. А. Н. Котеров<sup>1,\*</sup><sup>1</sup> ГНЦ РФ – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия\*E-mail: [govorilga@inbox.ru](mailto:govorilga@inbox.ru)

Поступила в редакцию 12.05.2021 г.

После доработки 04.06.2021 г.

Принята к публикации 29.06.2022 г.

Часть 3 сообщения 4 является заключительной публикацией в рамках цикла обзоров (всего 12) о методах установления причинности в обсервационных дисциплинах, о критериях причинности Хилла и иных авторов или организаций, об истории становления критериев, применении в различных дисциплинах, включая радиационные, об их ограничениях и критике.

В представленной статье рассмотрена широта использования метода оценки каузальности эффектов, основанного на причинных критериях (“критериях Хилла”). Обнаружено, что применение данного подхода, изначально разработанного для эпидемиологии, не ограничивается рамками только естественнонаучных дисциплин: критерии Хилла используются также в социологии и экономике, в юриспруденции и криминалистике, в психиатрии, климатологии, психологии и пр. Множество эпидемиологических направлений (15 эпидемиологий) предусматривают обязательное применение причинных критериев, в большинстве случаев называемых “критерии Хилла”. Выявлено также повсеместное включение критериев Хилла в оценки причинности эффектов различными международными и имеющими международный авторитет организациями: ВОЗ, МАИР (IARC), НКДАР ООН, BEIR, NCRP, USEPA (U.S. EPA) и др. Показан значительный вклад критериев Хилла в большинство известных современных методологий по оценке “Веса свидетельств” (Weight of Evidence – WoE) в эпидемиологии и доказательной медицине, равно как и перекрытие указанного подхода с другими, более недавними методологиями определения причинности – моделью достаточной компонентной причины К.Д. Rothman (модель SSC), подхода на основе ациклических причинных графов (модель DAG) и другими методами.

Приведены примеры рассмотрения/использования критериев Хилла в дисциплинах радиационного профиля, включая радиационную эпидемиологию, радиационную гигиену и радиационную безопасность. Сделан вывод о непреходящей актуальности методологии, основанной на критериях причинности, в том числе для оценки радиационной обусловленности медико-биологических эффектов.

**Ключевые слова:** критерии причинности, критерии А.В. Хилла, эпидемиологии различных направлений, “Вес свидетельств”, ВОЗ, МАИР, НКДАР ООН, BEIR, NCRP

**DOI:** 10.31857/S0869803122050071

Цикл наших сообщений (всего четыре; два в 2–3 частях), вместе с сопутствующими статьями-преамбулами (всего пять), посвящен истории появления, разработке, использованию, актуальности и ограничениям критериев причинности в обсервационных дисциплинах [1–11]. Наиболее известны девять руководящих принципов (“viewpoints”) Хилла (А.В. Хилла) [12], восемь из которых этот авторитетный английский статистик в области медицины только собрал воедино, взяв у дру-

гих авторов [2]. Тем не менее теперь критерии причинности в эпидемиологии разных направлений называются почти всегда “критериями Хилла” или “руководящими принципами Хилла” [2, 3, 5–8, 10].

Рассмотрев общие модели и определения причинности в философии, медицине и эпидемиологии [1], равно как и все причинные критерии Хилла по отдельности [3–9], ранее в историческом обзоре [2], мы изложили истоки их появления в эпидемиологии, перечислив истинных пионеров – авторов “до Хилла”. Но и “после Хилла”

<sup>#</sup> Публикуется в авторской редакции.

рядом авторов и организаций продолжались попытки совершенствования или модификации методов оценки причинности ассоциаций и эффектов в медико-биологических дисциплинах. Этой теме была посвящена часть 1 настоящего Сообщения 4, важными в которой являются принципы оценки индивидуальной причинности в профессиональной медицине и оценка каузальных эффектов в экологических дисциплинах. Все из них имеют отношение к критериям Хилла [10].

В части 2 Сообщения 4 были рассмотрены попытки систематизации, взвешивания и построения иерархии (“рангов”) для критериев причинности, критика каузального подхода, основанного на критериях как таковых и известные в настоящее время другие методы/модели установления причинности эффектов в эпидемиологии [11].

На протяжении всего цикла сообщений нами упоминался, порой со ссылками, факт широкого, можно сказать, повсеместного использования критериев причинности (“Хилла”) в самых разных дисциплинах, применяющих обсервационный подход и самыми разными международными организациями [2, 5–7, 9–11]. Как говорится, “учение всесильно, потому что оно верно”, и вездесущность критериев Хилла, уходящих корнями в построения каузальной логики от Д. Юма [13, 14] и Дж. Милля [15], впечатляет. Так сказать, “общечеловеческие ценности”.

Этот вопрос и освящен подробно в настоящей части 3 Сообщения 4, заключающий наш цикл работ. Дисциплины, организации, методические подходы по определению истинности ассоциаций – в большинстве случаев все они пронизаны красной нитью все тех же критериев причинности. Включая направления радиационного профиля.

Забегая вперед, можно утверждать, что ни уже давняя (с 1976 г.) модель достаточной компонентной причины К. J. Rothman [1, 11], ни направленные ациклические графы [11], ни иные современные подходы [11], являющиеся скорее иллюстративными и вспомогательными [11], не способны заменить основанное на причинных установках/критериях мышление в эпидемиологиях различных направлений. То есть в тех дисциплинах, которые предусматривают принятие решений, а не только теоретические изыскания из области “чистой науки” [11].

Некоторые авторы считают работу А. В. Hill, 1965 [12], где впервые был собран комплекс основных критериев, “одним из наиболее важных документов XX в. по эпидемиологическим основам причинности заболеваний” [16]<sup>1</sup> (список примечаний идет после основного текста). Другие авторы ставят “стратегию Хилла” выше даже мета-анализа [17]<sup>2</sup>, который в доказательной медицине (ЕВМ) порой рассматривают как “плати-

новый стандарт” для “золотого стандарта” – т.е. рандомизированных контролируемых испытаний [18]. Выходит так, что критерии Хилла как бы не имеют оценки в распространенных драгоценных металлах, переходя в область родия, осмия и т.п.

Конечно, подобные крайние мнения единичны, но практика использования названного подхода, как видно ниже, совсем наоборот.

### КРИТЕРИИ ПРИЧИННОСТИ (“ХИЛЛА”) В РАЗЛИЧНЫХ ДИСЦИПЛИНАХ

В данном случае имеются в виду глобальные дисциплины, ибо если дифференцировать таковые, скажем, внутри более общих направлений (например, на иммунотерапию, витаминотерапию, гастроэнтерологию, физиотерапию, паразитологию и мн. др.), то можно найти множество отдельных работ. Выборку последних мы и анализировали ранее на предмет частоты использования того или иного критерия [5, 6, 8, 9, 11], и эти исследования, выявленные через PubMed (70 работ за 2013–2020 гг.), отражали самые разные медико-биологические темы.

В табл. 1 приведен перечень глобальных дисциплин и направлений, в которых теми или иными авторами (о международных организациях – ниже) используются доказательства каузальности эффектов, основанные на причинных критериях, в большинстве случаев называемых “критериями Хилла”. Последовательность перечисления систематизации не поддается и потому представлена в алфавитном порядке.

Таким образом – от геномики до криминалистики (табл. 1). Наверное, столь широкий охват будет характерен еще только для статистики, математики и общей философии науки.

Среди около двух десятков различных типов эпидемиологий (официальные наименования) [16, 21, 26, 32, 37, 46–48, 53, 67–71] ссылки на использование “критериев Хилла” найдены нами для следующих дисциплин:

- Генетическая (genetic) эпидемиология [32] (есть журнал “Genetic Epidemiology”);
- Канцерогенеза (cancer) эпидемиология [26];
- Клиническая (clinical) эпидемиология [76, 77];
- Медицинская эпидемиология [32, 78, 79] (и мн. др. – это “обычная” эпидемиология; источники см. в [1–11]);
- Молекулярная (molecular) эпидемиология [80, 81];
- Питания (nutrition) эпидемиология [31, 32];
- Поведения, т.е. психологическая (behavioral) эпидемиология [37];
- Полевая (field) эпидемиология [69];

**Таблица 1.** Глобальные дисциплины и направления, в которых используются причинные критерии (“Хилла”) **Table 1.** Global disciplines, scientific and practical directions in which causal criteria are used (‘Hill’s criteria’)

Направление или дисциплина	Примечание
Геномика, клиническая генетика [19]	Ген <i>DJ-1</i> , пестициды и болезнь Паркинсона
Гигиена [20]	Примеры из области гигиены для каждого критерия Хилла
Доказательная медицина (ЕВМ) [21–25]	Клинические испытания в фармакоэпидемиологии [21], использование в ЕВМ [22, 24, 25], проверка результатов рандомизированных контролируемых испытаний [23]
Канцерогенез [26] (и мн. др.)	Причинная связь между факторами и частотой канцерогенеза
Климатология [27, 28]	Оценка прогноза изменений климата [27], роль низких температур как климатического фактора смертности населения [28]
Нейропсихиатрия [29, 30]	Проблемы критериев в нейропсихиатрии [29], когнитивные расстройства после экстази [30]
Нутрициология [31–33]	Применение в исследованиях факторов питания
Профилактическая медицина [34]	Предложение расширить критерии Хилла, добавив “последствия” (принятия решения)
Психиатрия [35, 36]	Маркеры воспаления при шизофрении [35], установление причинности в психиатрической эпидемиологии [36]
Психология [37–39]	Эпидемиология поведения [37], психологические факторы суицидов [38] и воспалений кишечника [39]
Радиационная безопасность [40–42]	Причинность эффектов у работников ядерной индустрии [40, 41], обоснованность линейной беспороговой концепции [42]
Радиационная гигиена [43, 44]	Частота раков и лейкозов у населения вблизи АЭС
Радиационная эпидемиология [40–52]	Документы NCRP [41], НКДАР ООН [46–48], BEIR-VII [49], МАИР (IARC) [50], учебная программа по малым дозам облучения [52] и др. источники (подробнее ниже)
Социология [32, 53, 54],	Социальные факторы в эпидемиологической причинности
Терапия интервенционистская [55]	Приложение критериев Хилла к вмешательствам
Тератология [56]	Комитет Teratology Society
Токсикология [57–61] (и др. источники по экотоксикологии – см. в [10])	ЕВМ в токсикологии [57, 58], международная программа по химической защите [59–61], экотоксикология [10] и др.
Фармакология [16, 21, 32]	Определение эффекта фармпрепаратов методами ЕВМ и эпидемиологии
Хиropрактика [62]	Доказательство эффективности хиропрактики не проходит по критериям Хилла
Экология (биота) и экотоксикология [63–66] (и мн. др.; см. в [10])	Причинность зоонозов [64]; применение модифицированных критериев Хилла для определения Веса свидетельств (Weight of Evidence – WoE) путем исследований на животных в экологии и экотоксикологии (подробнее см. в [10])
Экономика [67]	Приложение критериев Хилла к экономическим ситуациям
Эпидемиологии разных направлений [16, 21, 26, 32, 37, 46–48, 53, 67] (и др.; подробнее ниже)	В работе [68] приведены названия 15 типов эпидемиологий, к которым можно добавить еще [69, 70]. Для большинства есть указания на использование критериев Хилла, ибо аппарат при обсервационных подходах един (см. ниже)
Юриспруденция и криминалистика [70–75]	Дисциплина “судебно-медицинская эпидемиология” [70, 71], основы для экспертных заключений эпидемиологов в судах [72–75]

• Профессиональных воздействий (occupational) эпидемиология [82, 83];

• Психиатрическая (psychiatric) эпидемиология. Есть именно такая дисциплина, с соответ-

ствующими пособиями [84, 85]. Критерии Хилла – применяются [34, 36];

• Радиационная (radiation) эпидемиология [40–42, 45–52];

- Социальная (social) эпидемиология [86, 87];
- Судебно-медицинская (forensic) эпидемиология [70, 71];
- Фармакоэпидемиология (Pharmacoepidemiology) [16, 21];
- Экологическая (Ecoepidemiology или Environmental epidemiology) эпидемиология [88–91].

Итого 15 наименований. Есть еще, понятно, “Эпидемиология инфекционных заболеваний” [32] (и мн. др.), но в ней в качестве критериев причинности используются постулаты Генле–Коха [2] или A.S. Evans [10].

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КРИТЕРИЕВ ПРИЧИННОСТИ (“ХИЛЛА”) РАЗЛИЧНЫМИ ОРГАНИЗАЦИЯМИ

Критерии Хилла используются большим числом международных, имеющих международный авторитет и национальных организаций самого различного профиля и уровня, а также в рамках выполняемых ими программ. Критерии нередко входят в декларируемые способы доказательности причинности эффектов. Если пытаться найти в соответствующих документах и публикациях сведения о применении модели компонентной причины K.J. Rothman, специальных критериев M.W. Susser или еще каких-то подходов, включая модель направленных ациклических графов, рассмотренных нами ранее [10, 11], то в лучшем случае это окажутся просто упоминания, что такие методы имеются, редко – больше (критерии причинности в экологии [10]). Иное дело – с “критериями Хилла” (табл. 2).

Итого – 37 пунктов. Анализ данных в табл. 2 выявляет следующие наиболее крупные организации: комиссии и комитеты при ВОЗ, комитет BEIR, Агентства по воздействиям факторов окружающей среды (британское, канадское, США – UNEPA), FDA, МАИР (IARC), OECD (Организация экономического сотрудничества и развития) и UNSCEAR (НКДАР ООН). Таким образом, принятие решений на самом высоком уровне, осуществляемое вне экспериментальных возможностей, почти всегда основывается на причинных критериях, в пределах преимущественно девяти пунктов A.V. Hill.

### КРИТЕРИИ ПРИЧИННОСТИ (“ХИЛЛА”) ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ “ВЕСА СВИДЕТЕЛЬСТВ” (WoE)

В обширном исследовании авторов из Франции, Канады и Бельгии, Martin P. et al., 2018 [161], были проанализированы документы 63 национальных и международных агентств и 116 иных руководств-публикаций, устанавливающих правила WoE. Всего нашлось 24 методологии, вклю-

чая классические [12], модифицированные [10, 126, 137, 162, 163] (рассмотрены нами в [10]) и взвешенные [164] (рассмотрены в [11]) критерии Хилла, о чем нами говорилось и ранее [11]. Еще две методологии [165, 166] были обнаружены нами в прежние годы вне исследования [161]. Как уже не раз отмечалось [8–11], более половины из оставшегося 21 подхода, перечисленного в [161], сводятся ко все тем же критериям Хилла, а среди незатронутых значительная часть – это обзоры, мета-анализы и экспертные заключения. Сводка данных представлена в табл. 3.

Выводом будет то, что из 28 методов оценки “Веса свидетельств” в неэкспериментальных дисциплинах, помимо трех упомянутых подходов, основанных на собственно критериях Хилла [10, 12, 126, 137, 162–164], еще 15 связаны с таковыми прямо или косвенно (в сумме 64%). А если убрать из выборки мета-анализ и систематические обзоры (всего четыре пункта – см. в табл. 3), то с критериями Хилла окажутся связаны уже 75% методик. То есть 3/4 из всех собранных в недавней капитальной работе [161], с нашими добавлениями. Поэтому приведенная выше сентенция об аналогии с “общечеловеческими ценностями” представляется уместной.

Заметим, что представленная в табл. 3 выборка методик оценки WoE – не наша, а из работы [161] (нами добавлены только четыре отсутствующих пункта [25, 165, 166, 188]). В этой работе [161] никакого уклона к апологетике критериев Хилла, равно как акцентирования на них, не предусматривалось.

Широту использования подходов, связанных с указанными критериями, иллюстрируют и некоторые необычные примеры: статья на иврите от 2015 г., им посвященная [200], применение критериев Хилла для оценки причинности заболеваний у ветеранов войны в Персидском заливе [201] и определение каузальности связи между посттравматическим расстройством и употреблением алкоголя у пожарных [202].

### КРИТЕРИИ ПРИЧИННОСТИ (“ХИЛЛА”) В ПОСОБИЯХ ПО ЭПИДЕМИОЛОГИИ, ФИЛОСОФИИ МЕДИЦИНЫ, МЕДИЦИНСКОЙ СТАТИСТИКЕ И ЕВМ

Прошло 57 лет с тех пор, как A.V. Hill скомпилировал список причинных критериев для обсервационных исследований (1965) [12]. Прошло 45 лет с тех пор, как K.J. Rothman “полностью раскритиковал” и отринул какие-либо индуктивные каузальные подходы в эпидемиологии, предложив свой “пирог” компонентной причинности (1976) [203] (подробнее см. в [1, 11]). Как видим, в практическом плане там, где необходимо принять решение, главным остается подход A.V. Hill,

**Таблица 2.** Использование причинных критериев (“Хилла”) международными, имеющими международный авторитет и национальными организациями/программами  
**Table 2.** The use of causal criteria (‘Hill’s criteria’) by international, internationally respected and national organizations/programs

Организация или программа	Примечания
ACGIH 2016 (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) [92] (цитировано по [93])	Благотворительная научная организация по вопросам гигиены труда и окружающей среды. ‘Journal of Occupational and Environmental Hygiene’. Адаптированные критерии Хилла
ACSH 2017 (American Council on Science and Health) [94]	Некоммерческая организация, защищающая интересы потребителей. Основана группой ученых с целью поддержки науки и медицины, основанных на фактических данных, и опровержения лженауки и преувеличенных опасений по поводу здоровья
AHRQ 2013 (Agency for Healthcare Research and Quality; USA) [24]	Ведущее федеральное агентство, отвечающее за безопасность и качество здравоохранения США
ANSES 2012–2017 (Agence Nationale de Securite Sanitaire; France) [95–97]	Национальное агентство по безопасности пищевых продуктов, окружающей среды и гигиены труда Франции
ANZEA 2015 (Aotearoa New Zealand Evaluation Association) [98]	Представляет потребности экспертных специалистов всех видов, поддерживает профессиональное развитие, безопасные и качественные услуги по экспертным оценкам в Новой Зеландии
ARPANSA 2002 (Australian Radiation Protection and Nuclear Safety Agency) [99]	Орган по радиационной защите Австралии
BEIR VII 2006 (National Research Council; NRP США) [49]	Комитет АН США по биологическим эффектам ионизирующего излучения
BMA 2004 (British Medical Association) [100]	Профсоюз медиков Великобритании
Britain Environment Agency (Environment Agency UK 2008 [101]	Охрана и улучшение окружающей среды Великобритании
Canadian Environmental Protection (Environment Canada) 2013 [102]	Охрана и улучшение окружающей среды Канады
Committee on Diet and Health of the National Research Council’s Commission on Life Sciences USA 1989 [103] (цитировано по [32])	Комитет по питанию и здравоохранению Национального исследовательского совета по естественным наукам США
CRCFE 2008 (Cooperative Research Centre for Freshwater Ecology Australia) [104]	Некоммерческое государственное предприятие, поддерживающее экологически устойчивое управление водными ресурсами в Австралии и в мире
‘Doctors Without Borders’ (“Врачи без границ”) [105]	Памятка по установлению каузальности в полевых условиях
ECETOC 2009 (European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals) [106]	Европейский центр по экотоксикологии и токсикологии химических соединений
ECHA (European Chemicals Agency) 2011 и 2017 [107, 108]	Европейское агентство по химическим соединениям – административное исполнение регламента Европейского союза о регистрации, исследованию и разрешении на химические агенты
FDA 2005 (U.S. Food and Drug Administration) [109, 110]	Главный регулирующий орган США по контролю за продуктами питания и медикаментами
GACVS 2013 (Global Advisory Committee on Vaccine Safety) [32, 111, 112]	Международный консультативный комитет по безопасности вакцин ВОЗ
GRADE 2011 (Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation). GRADE working group [113, 114]	Международная рабочая группа, вырабатывающая метод GRADE по оценке качества доказательств для решения вопросов о вмешательстве (ВОЗ, Кокрейновское общество и др.)
IARC 1980–2012 (International Agency for Research on Cancer) [50, 75, 110, 115–122]	Международное агентство по изучению рака (МАИР)
ICNIRP 2016 (International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection) [123]	Международная комиссия по защите от неионизирующих излучений

Таблица 2. Окончание

Организация или программа	Примечания
ILSI RSI 2005–2014 (International Life Sciences Institute's Risk Science Institute, USA). A Framework for Human Relevance Analysis of Information on Carcinogenic Modes of Action [124–126]	Международная некоммерческая научная организация со штаб-квартирой в Вашингтоне. Свод правил по переносу данных экспериментов на животных на канцерогенные риски для человека
International Joint Commission 1989 (USA) [88, 127]	Критерии причинности в экотоксикологии (см. также в [10])
IPCS 1980–2017 (International Programme on Chemical Safety) [10, 60, 61, 65, 66, 124, 126, 128–137]	Программа начата в 1980 г. под эгидой ВОЗ (WHO), International Labour Organization (ILO) и United Nations Environment Programme (UNEP). С 2001 г. в IPCS от WHO/ILO/UNEP публикуется свод правил (framework) для оценки МОА (Mode of Action) канцерогенных агентов для животных с экстраполяцией рисков на людей (см. в [10])
NAS 2018 (National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine USA) [138]	Рабочее совещание по каузальным основам при принятии решений по рискам для человека
National Cancer Institute 2002 [115]	Акцент на биологических механизмах и интеграции данных из разных дисциплин [115]
NCRP 1994 (National Council on Radiation Protection USA) [41]	Все критерии Хилла кроме “Эксперимент” и “Аналогия”
NHMRC 2015 (National Health and Medical Research Council) [139]	Интерпретация доказательств в эффектах для здоровья различных факторов
NRC, USEPA IRIS program 2001–2013 (National Research Council (NRC) в рамках NAS USA; программа Integrated Risk Information System) [41, 114, 140]	В 2011 г. комитет NRC Национальной академии наук (NAS) рассмотрел проект Интегрированной системы информации о рисках (IRIS) Агентства США по охране окружающей среды (USEPA); призвал USEPA разработать методологию для оценки веса свидетельств (WoE), применимую к IRIS
OCEBM 2011 (Oxford Centre for Evidence-Based Medicine) [25]	Роль экспертного заключения в доказательности в ЕВМ. Принятие клинических решений
OECD 2012–2016 (Organisation for Economic Co-operation and Development; USA, France etc.) [65, 134, 135, 137, 141–145]	WoE для оценки AOP (Adverse Outcome Pathways; см. в [10]). Акцент на критерии “Биологическое правдоподобие”
OHDSI 2015 (Observational Health Data Sciences and Informatics program; USA) [146]	Междисциплинарная программа, позволяющая создавать решения, раскрывающие важность данных наблюдений за состоянием здоровья посредством крупномасштабной аналитики
Public Health Service USA 1986 [147, 148]; University of North Carolina at Chapel Hill (UNC) School of Public Health 2015 [149]	Экспертная группа по причинности эффектов в предродовой период. Подкомиссия рассмотрела руководящие принципы установления каузальности; выводы на основе критериев Хилла [147, 148]; Совет по образованию в рамках Public Health Service USA [149]
SV40 Cancer Foundation [150]	Причинная связь между различными типами рака мозга и вирусом SV40
UNEP/WHO или WHO-UNEP 2002–2015 (United Nations Environment Programme/WHO). В рамках IPSI [151–155]	Использование критериев Хилла для оценки эффектов на биоту [151]; воздействия химических агентов на эндокринную систему [152–155]
UNSCEAR (НКДАР ООН) 1994 (4 критерия без упоминания А.В. Хилла) [156]; с 2006 (издан в 2008 г.) [46] до 2017 [47, 48]	Модифицирован порядок критериев Хилла; критерий “Эксперимент” представлен не как контрафактический, а как обычные эксперименты (см. в [7, 9])
USDHEW 1964–2014 (United States Department of Health, Education and Welfare) [157–159]	Доклады Surgeon General (Главного врача США) о последствиях курения. Подробнее см. в [2]
USEPA (U.S. Environmental Protection Agency) 1991–2020. Обзор см. в [10]	Модифицированные критерии Хилла; приоритет “Биологическому правдоподобию” [10]
WHO [54, 91, 93, 137, 151–155, 160] (и мн. др.; см. выше)	Программы, комиссии, комитеты ВОЗ

**Таблица 3.** Критерии “Хилла” в методологиях по оценке “Веса свидетельств” (WoE) в пользу причинной обусловленности эффектов**Table 3.** ‘Hill’ criteria in methodologies for evaluating ‘Weight of Evidence’ (WoE) in favor of effect causation

Метод оценки WoE	Суть метода	Вклад критериев “Хилла”
AMSTAR (Assessment of multiple systematic reviews) [167–169] и R(evised)-AMSTAR [168, 169]	Оценка качества систематических обзоров через скоринг (набирание очков) [161]	Вне критериев Хилла
Bayesian inference (байесовский анализ) [170]	Анализ, объединяющий экспертные знания (с априорным распределением вероятностей) с данными для оценки неопределенностей [161]	Вне критериев Хилла
Decision Tree [171–173]	Анализ основан на древовидном графике, описывающем варианты для различных пунктов принятия решения [161]	Вне критериев Хилла
ECHA (European Chemicals Agency) estimation [107, 108]	Оценка качества токсикологических исследований, основанная на ограниченных показателях достоверности, актуальности и адекватности данных [161].	Но основе критериев Хилла [12], Klimisch-оценки (Klimisch H.J. et al., 1997 [174]) и software-based tool ToxRTool от European Commission’s Joint Research Centre для оценки данных <i>in vivo</i> и <i>in vitro</i> [175]
Epid-Tox [59, 176]	Сетка, основанная на пятиэтапном процессе оценки качества эпидемиологических и токсикологических исследований и их пересечении [161]	На третьем этапе при оценке WoE – использование критериев Хилла [176]
FDA (U.S. Food and Drug Administration). Reviewer Guidance; Guidance for Industry [109, 110, 177]	Общая оценка причинности ассоциаций, установленных для человека (‘overall assessment of postmarketing human data’) [109]	Использование критериев Хилла [106, 109, 177]
GRADE (Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation) [113, 114, 178]	Метод по оценке качества доказательств для решения вопросов о вмешательстве и его эффективности для пациента (ВОЗ, Кокрейновское общество и др.) [113, 114, 161]	Использование критериев Хилла [113, 114]
Hope and Clarkson [101, 179]	Взвешивание и интеграция информации о причине и следствии для оценки вероятности неблагоприятного исхода в экологии [161]	Вне критериев Хилла
Hypothesis-based [180, 181]	Экспертно-зависимая оценка различных гипотез для идентификации опасности химических веществ [161]	“Подход во многом соответствует видению сэра А.В. Хилл в 1965 г.” [180]
IARC Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans [50, 74, 106, 115–122]	“Принципы, правила и процедуры, используемые МАИР при оценке риска канцерогенности для человека различных факторов” [118]	Использование критериев Хилла [50, 115–122]
ILSI и RSI (Risk Science Institute, USA): A Framework for Human Relevance Analysis of Information on Carcinogenic Modes of Action [124–126]; ILSI (International Life Sciences Institute): Europe Food Allergy Task Force [182]	Свод правил по переносу данных экспериментов на животных на канцерогенные риски для человека [124–126]; комплекс критериев для оценки фактических данных об аллергенах [161, 182]	Использование критериев Хилла [124–126]; вне критериев Хилла [161, 182]
INCa (Institut National du Cancer; France) [183]	Критерии оценки фактора питания и связанного с ним риска развития рака [161]	Вне критериев Хилла
ITS (Integrated testing strategies for safety assessments) [165]. Вне выборки методов в Martin P. et al., 2018 [161]	Стратегия на основе систематической комбинации нескольких источников информации [165]	Использование критериев Хилла [165]

Таблица 3. Окончание

Метод оценки WoE	Суть метода	Вклад критериев “Хилла”
Мета-анализ [161]	—	Вне критериев Хилла
MCDA (Multi-criteria decision analysis-based tools) [114, 184, 185], а также USEPA [186, 187]	Экспертная количественная оценка качества исследований и их интеграции, включая анализ чувствительности и неопределенности [161]	Использование критериев Хилла [114, 185]
NICE 2010 (National Institute for Health and Clinical Excellence in England) [188]. Вне выборки методов в Martin P. et al., 2018 [161]	Руководство по применению принципов ЕВМ в здравоохранении. Оценка убедительности доказательств	Вне критериев Хилла
NRC IRIS program (National Research Council) в рамках NAS USA; программа Integrated Risk Information System) [114, 140, 189]	NRC; интегрированная система информации о рисках (IRIS); методология для оценки WoE, применимая к IRIS [189]	Использование критериев Хилла [114, 140]
OCEBM (Oxford Centre for Evidence-Based Medicine) [25]. Вне выборки методов в Martin P. et al., 2018 [161]	Методика уровня доказательности [25]	Использование критериев Хилла [25]
OHAT (Office of Health Assessment and Translation), Division of the National Toxicology Program [190]	Рейтинги доверия: оценка совокупности доказательств (Confidence rating: assessment of body of evidence) [190, 191]	Использование критериев Хилла [190, 191]
QI&I (Quality improvement and implementation) [166]. Вне выборки методов в Martin P. et al., 2018 [161]	Основанные на ЕВМ оценки управляемого контроля при ведении пациента [166]	Использование критериев Хилла [166]
SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks). Комитет Европейского союза [192]	Рассмотрение опубликованных исследований в трех категориях качества и актуальности и в трех категориях согласованности между исследованиями аналогичного типа с взвешиванием типов доказательств по полезности/согласованности [161]	Использование критериев Хилла [192]
SR-Cochrane (Кокрейновский систематический обзор) [193]	—	Вне критериев Хилла
SR-EFSA (систематический обзор European Food Safety Agency) [194]	Детальное планирование, процесс и документация систематического обзора (модификация SR-Cochrane) [161]	Вне критериев Хилла
SR-Navigation Guide (систематический обзор) [195–197]	Обобщение результатов в контексте исследований, состоящее из четырех этапов, сфокусированных на систематическом обзоре [161]	Вне критериев Хилла (оценка в виде систематического обзора), но в [197] они обсуждаются
WCRF/AICR (World Cancer Research Fund and American Institute for Cancer Research) [198, 199]	Классификация факторов питания в плане риска рака. Оценка исследований на основе передовой практики; мета-анализ, систематический обзор и рассмотрение данных о механизмах применительно к человеку [161]	Использованы два критерия Хилла: “Биологический градиент” (зависимость “Доза–эффект”) и “Эксперимент” в обычном смысле [198, 199]

но не К. J. Rothman. В теории эпидемиологии и иных обсервационных дисциплин картина почти такая же: критерии причинности Хилла в обяза-

тельном порядке упоминаются в большинстве современных пособий по эпидемиологии, философии медицины, медицинской статистике и ЕВМ

(“пирог” К.Ж. Rothman, впрочем, тоже). Имеющаяся у нас библиографическая база применительно к этому вопросу представлена на рис. 1.

Всего 75 пособий, но на деле на четыре меньше – на рис. 1 приведены и вторые издания. Таким образом, из 71 пособия в 69% таковых рассмотрены именно критерии Хилла; еще в 6% приведены причинные критерии, хотя и без упоминания его имени. То есть известность методологии высока – соответствует 3/4 источников.

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОЛОГИИ, ОСНОВАННОЙ НА ПРИЧИННЫХ КРИТЕРИЯХ (“ХИЛЛА”) В МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

В работе Davey Smith G., 2019 [204] представлено число цитирований в Google Scholar ключевой публикации Hill A.V., 1965 [12] в период 1965–2018 гг. Выявляется практически экспоненциальная зависимость – до порядка 650 цитирований, равно как и для конструкции [“Causal inference” and “Epidemiology”] – до около 6500 цитирований в 2017 г.

Ранее нами была исследована выборка из 70 работ (2013–2020), в которых критерии Хилла использовались как методология подтверждения истинности причинных эффектов. Выборка анализировалась на частоту применения каждого из критериев [11]. В настоящем исследовании был осуществлен поиск в PubMed на точное сочетание “Hill criteria”; всего было выявлено 259 публикаций – обзоров и исследований (то же самое, хотя и в меньшем количестве, обнаруживалось и при поиске на “Hill’s criteria”). В базе данных MeSH PubMed таких сочетаний нет, но первая работа в PubMed датировалась только 1991 г.

На рис. 2 представлена динамика роста публикаций, выявленных на сочетание “Hill criteria”, по пятилеткам, 1991–2020 гг.

Зависимость наилучшим образом и с высокой статистической значимостью описывалась квадратичной функцией, причем наблюдается четкий рост публикаций, связанных с использованием/рассмотрением критериев Хилла. Напомним, что, по нашим данным, аналогичный поиск работ, связанных с моделью достаточной компонентной причины К.Ж. Rothman, выдал максимум 5–22 публикации на разные сочетания ключевых слов (1993–2020) [11], т.е. более чем на порядок меньше сравнительно с 259 для “Hill criteria”.

Конечно, абсолютное число работ по годам невелико – максимум составляет 27, но, если вспомнить упомянутую работу Davey Smith G., 2019 [204], то публикаций с цитированием статьи А.В. Hill, как сказано, окажется в 20–30 раз больше. Главное же – факт роста и цитируемости, и

использования критериев Хилла вплоть до последних лет.

### ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОЛОГИИ, ОСНОВАННОЙ НА ПРИЧИННЫХ КРИТЕРИЯХ (“ХИЛЛА”) В ДИСЦИПЛИНАХ РАДИАЦИОННОГО ПРОФИЛЯ

*Международные и имеющие международный авторитет организации.* В историческом обзоре [2] нами разбиралась частота упоминания критериев Хилла в документах НКДАР ООН; эти данные повторены с дополнениями (1994–2017) [46–48, 156] здесь в табл. 1 и 2. Нет примеров прямого использования указанной организацией причинных критериев в конкретных ситуациях; все упоминания связаны только с изложением методических подходов. То же самое – и для BEIR-VII (2006) [49] и для NCRP США, по крайней мере в 1994 г. [41]. В то же время МАИР (IARC) в свою методологию установления причинности канцерогенеза включает критерии Хилла и непосредственно использует их в том числе для оценки радиационных эффектов [119, 120].

Таким образом, можно сказать, что вплоть до последних годов подход, основанный на критериях Хилла, вполне признается и даже используется на самом высоком международном уровне организациями радиационного профиля.

*Исследованию причинности лучевых эффектов.* Поиск в PubMed на сочетания [“Hill criteria”&radiation] и [“Hill’s criteria”&radiation] выявил всего восемь источников, однако многие оказались связаны с солнечной радиацией (витамином D, меланомой и т.п.). Попадались также исследования эффектов электромагнитного излучения (пять публикаций) [205–209], в том числе применительно к канцерогенному действию мобильной связи [207–209]; выводы, так сказать, противоречивы. Остальные известные нам источники на тему выявлены вне поиска в PubMed:

- Лучевая причинность лейкозов в когорте пострадавших от атомных бомбардировок. В соответствующем документе учтены все девять критериев Хилла (2010) [51].

- Канцерогенез после облучения *in utero*. Среди разных причинных подходов использовано три критерия (без упоминания Хилла): “Постоянство ассоциации”, “Зависимость доза–эффект” и “Согласованность с текущими фактами и теоретическими знаниями” (Coherence) (1999) [45].

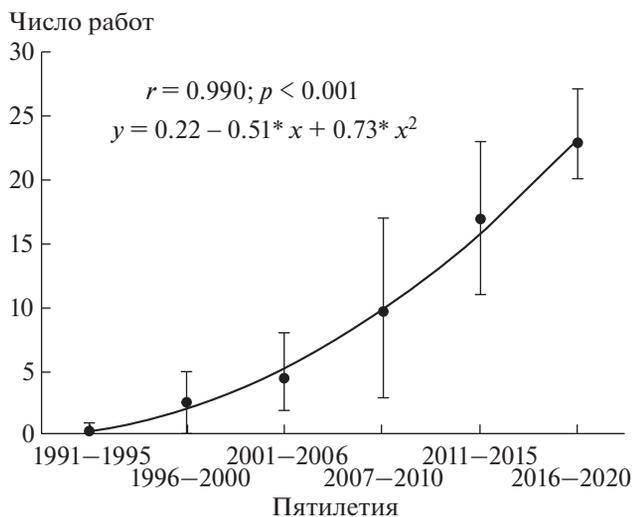
- Упоминание критериев Хилла в обзоре по компенсациям работникам ядерной индустрии Великобритании за профессиональные вредности (1998) [40].

- Критерии Хилла в документе по лучевым эффектам организации Министерства энергетики США (DOE) по переработке и постоянной

<b>Пособия, в которых рассмотрены критерии Хилла (53)</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>📁 Ahrens_Pigeot_Eds_Epidemiol_2014</li> <li>📁 Aschengrau_Seage_Epidemiol_2014</li> <li>📁 Aschengrau_Seage_Epidemiol_2020</li> <li>📁 Baldi_Moore_Stat_Life_Sci_2014</li> <li>📁 Bhopal_Epidemiol_2002</li> <li>📁 Bhopal_Epidemiol_2016</li> <li>📁 Bonita_et_al_Epidemiol_2006</li> <li>📁 Bruce_et_al_Epidemiol_Stat_2019</li> <li>📁 Clinical_Epidem_Вашинг_универ</li> <li>📁 Coughlin_Causality_2010</li> <li>📁 Encyclop_Epidemiol_2008</li> <li>📁 Epiemiol_Ed_Lilienfeld_2015</li> <li>📁 Friis_Sellers_Epidemiol_2014</li> <li>📁 Gordis_Epidemiol_2014</li> <li>📁 Gordis_Epidemiol_2019_Celentano_Szklo</li> <li>📁 Gori_Epidemiol_police_2004</li> <li>📁 Gregg_2008_Field_Epidemiol</li> <li>📁 Hofmann_et_al_Phyl_Sci_2007</li> <li>📁 Holmes_Epidemiol_2018</li> <li>📁 Howick_EBM_2011</li> <li>📁 Kane_Secrets of statistic</li> <li>📁 Katz_et_al_Epidemiol_Statistics_Preventive_2014</li> <li>📁 Loue_Ed_Forensic_Epidemiol_2013</li> <li>📁 Mandil_Causal_Lecture</li> <li>📁 Merrill_Epidemiol_2017</li> <li>📁 Merrill_et_al_Behavior_Epidemiol_2016</li> <li>📁 Nordness_Epidemiol_Biostat_Secrets_2005</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>📁 Olsen_et_al_Eds_Teach_Epidemiol_2015</li> <li>📁 PAI_Lectures_2014</li> <li>📁 Parfrey_Barrett_Eds_Clin_Epidemiol_2015</li> <li>📁 Pharmacoepidemiol_2000</li> <li>📁 Rothman_Encyclop_Biostat_1998</li> <li>📁 Rothman_Epidemiol_2002</li> <li>📁 Rothman_Epidemiol_2012_2nd_Edit</li> <li>📁 Rothman_et_al_Modern_Epidemiol_2008</li> <li>📁 Rothman_Greenland_Encycl_Biostat_2005</li> <li>📁 Saracci_Epidemiol_2010</li> <li>📁 Stewart_Stat_and_Epidemiol_2016</li> <li>📁 Szklo_Nieto_2019_Epidemiol</li> <li>📁 Van_den_Broeck_Brestoff_Eds_Epidemiol_2013</li> <li>📁 Venables_Ed_Occup_Epidemiol_2013</li> <li>📁 Ward_et_al_Epidemiol_2012</li> <li>📁 Webb_Bain_Epidemiol_2011</li> <li>📁 Wiedermann_von_Eye_Eds_2016_Stat_Causat</li> <li>📁 Брико_и_др_Эпидемиол_Т1_2013</li> <li>📁 Власов_Эпидемиол_2006</li> <li>📁 Гринхальх_Доказат_мед_2006</li> <li>📁 Иванов_УП_Малые_дозы_БГУ_2016</li> <li>📁 Канцерогенез_Ред_Заридзе_2004</li> <li>📁 Ревич_Экол_эпидем_Лекция_2013</li> <li>📁 Семеновых_и_др_Уч_пособие_2011</li> <li>📁 Флетчер_и_др_Клин_эпидемиол_1996_1998</li> <li>📁 Хасанова_и_др_Эпидемиол_Док_мед_2017</li> </ul>
<b>Не упомянуты критерии Хилла (18)</b>	<b>Есть критерии, нет Хилла (4)</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>📁 Berry_et_al_Epidemiol_Association_2018</li> <li>📁 Dicker_Epidemiol_1992</li> <li>📁 Greenberg_et_al_Med_Epidemiol_2015</li> <li>📁 Halloran_Berry_Eds_Stat_Epidemiol_2000</li> <li>📁 Keyes_Galea_2014_Epidemiol_Meth</li> <li>📁 Krickeberg_et_al_2019_Epidemiol</li> <li>📁 Krieger_Epidemiol_Health_2011</li> <li>📁 Morgan_Eds_Causal_Social_Res_2013</li> <li>📁 Oakes_Kaufman_Eds_Social_Epidemiol_2017</li> <li>📁 Phil_Sci_Ed_Gonzalez_Alcolea_2006</li> <li>📁 Sadegh-Zadeh_Philos_Med_2015</li> <li>📁 Weiss_Epidemiol_2012</li> <li>📁 Альбом_Норелл_Эпидемиол_1996</li> <li>📁 Беляков_Яфаев_Эпидемиол_1989</li> <li>📁 Зуева_Яфаев_Эпидемиол_2005</li> <li>📁 Корнышева_и_др_Эпидемиол_и_стат_2009</li> <li>📁 Покровский_Брико_Ред_Эпидем_EBM_2012</li> <li>📁 Ющук_Мартынов_Эпидемиол_2003</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>📁 Kestenbaum_Epidemiol_Stat_2019</li> <li>📁 Nour_Plourde_Pharmacoepid_2019</li> <li>📁 Брико_Лекция_2007</li> <li>📁 Покровский_и_др_Эпидемиолог_2007</li> </ul>

**Рис. 1.** Пособия по эпидемиологии, философии медицины, медицинской статистике и ЕВМ, в которых рассмотрены или не рассмотрены критерии причинности (“критерии Хилла”). По авторской базе электронных версий.

**Fig. 1.** Textbooks on Epidemiology, Philosophy of Medicine, Medical Statistics, and Evidence base medicine that consider or do not consider the criteria of causality (“Hill’s criteria”). According to the author’s base of electronic versions.



**Рис. 2.** Динамика роста числа публикаций, выявленных в PubMed на сочетание “Hill criteria”, по пятилетиям. Представлены средние значения, максимумы и минимумы. Оптимальную зависимость при выборе описательной функции определяли с использованием программы IBM SPSS, ver. 20; график построен с помощью программы Statistica, ver. 10.

**Fig. 2.** Dynamic of increase of publication number identified in PubMed for the combination of “Hill criteria” over fifth anniversary. Mean, maximum and minimum are presented. The optimal dependence for the descriptive function was determined using the IBM SPSS, ver. 20; the graph was made using Statistica, ver. 10.

утилизации радиоактивных и химических отходов (2016) [93].

- Радиационная гигиена: использование критериев Хилла при установлении причинности раков и лейкозов для резидентов вблизи АЭС (2009) [43, 44].

- Оценка корректности модели ЛБК (линейной беспороговой концепции) для стохастических эффектов радиации в малых дозах (2012–2020) [210–212].

Последние работы представляются наиболее значимыми; в двух из них (одной группы авторов) [201, 211] приходят к выводу об отсутствии доказанного канцерогенного риска малых доз радиации, а в третьей, напротив, нашли соответствие пяти критериям из семи рассмотренных: данные якобы удовлетворяют “Постоянству ассоциации”, “Временной зависимости”, “Биологическому градиенту”, “Биологическому правдоподобию” и “Согласованности”, а не удовлетворяют “Силе ассоциации” и “Специфичности” [212]. Эти выводы могут быть предметом дискуссии и оспаривания, но более важным представляется именно использование критериев Хилла для оценки эффектов малых доз радиации в самые последние годы. Работа [212] увидела свет в 2020 г., и все ее авторы — ведущие и весьма известные ра-

диационные эпидемиологи. Некоторые, может, даже самые известные (D.L. Preston, M.P. Little).

Иными словами, актуальность нашего цикла сообщений, начатого в 2019 г. [1–11] и посвященного оценке каузальности, в том числе радиационных эффектов, на основе критериев причинности, еще раз подтверждается.

Что же касается отечественных или, шире, русскоязычных источников, в которых рассматривались бы критерии Хилла в радиационной эпидемиологии, то, вне наших более ранних публикаций (2010–2016) [213–217] был найден один единственный документ — учебная программа “Эффекты малых доз” для специальности “Химия высоких энергий” Белорусского государственного университета (Иванов Е.П., 2016) [213]<sup>3</sup>. Как говорится, “без комментариев”.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ К ЦИКЛУ ИЗ 4 СООБЩЕНИЙ (12 ПУБЛИКАЦИЙ)

Обширный материал по каузальным подходам в эпидемиологии, с упором на причинные критерии, потребовал многих публикаций. Два из четырех сообщений выполнены в 2–3 частях [8–11] (и настоящая работа); еще пять публикаций послужили подробными преамбулами к собственно сообщениям [3–7]. Было изложено, практически без сокращений, все, что нам оказалось известным о методах установления причинности в обзорных дисциплинах, о критериях причинности Хилла и иных авторов или организаций, об истории их становления, или применении в различных дисциплинах, включая радиационные, об их ограничениях и критике.

Исследование, в первую очередь, должно было заполнить пробелы в идеологии доказательности в отечественных дисциплинах, включая эпидемиологию и ЕВМ, но на деле его актуальность шире, затрагивая в том числе причинно-следственную оценку фактов и принятие решений в нашей обыденной жизни и деятельности. По нашему мнению, полный курс на данную тему необходимо читать при подготовке буквально всех специалистов естественнонаучного и медицинского профиля (еще столь же полный курс следует читать по ЕВМ).

Несмотря на то что к настоящему времени имеется ряд методологий, которые относят к доказательными применительно к неэкспериментальным подходам в эпидемиологии, социологии, экономике и пр., все же, по нашему мнению, основной подход связан с причинными критериями, преимущественно — по списку, скомпилированному А.В. Hill еще в 1965 г. [12]. Именно поэтому почти все наши сообщения посвящены критериям причинности, в том числе иных авторов и организаций [2, 10], и только в двух публи-

кациях рассмотрены остальные методологии установления каузации [1, 11]. В действительности, причинное мышление, основанное на критериях “Хилла”, во многом является основой и иных подходов – и модели достаточной компонентной причины K.J. Rothman (“Модель SCC”) [1, 11, 203], и контрафактической модели (“потенциальных исходов”), и модели направленных ациклических графов (модель DAG) и др. [11]. Эти наши заключения [11] независимо подтвердились недавними презентацией (2019) и соответствующей публикацией (декабрь 2020) иных авторов. В работах Shimonovich M. et al., 2019; 2020 [219, 220] было выполнено сопоставление девяти критериев Хилла с моделью SSC, моделью DAG и методом по оценке качества доказательств GRADE (см. табл. 2 и 3). Было обнаружено значительное *совпадение* подходов на основе критериев Хилла с перечисленными моделями. По мнению [220], “это подчеркивает непреходящую важность пунктов (viewpoints) Bradford Hill”, которые “остаются основополагающими для причинно-следственной оценки”. “Совпадение пунктов Bradford Hill и других подходов подчеркивает постоянное влияние этих [критериев] на причинно-следственную оценку наряду с развитием причинного мышления”<sup>4</sup>.

Еще ранее, в Geneletti S. et al., 2011 [221], была сделана попытка совместить в каузальной методологии для геномики критерии Хилла и модель DAG.

Наш анализ выявил (табл. 3) к тому же значительный вклад названных критериев в большинство известных современных методологий по оценке “Веса свидетельств” (WoE) в эпидемиологии и ЕВМ.

Все это в очередной раз подчеркивает, что начатое нами в 2018 г. исследование, реализовавшееся к 2022 г. в 12 обзоров, посвященных в основном причинным критериям, все еще набирает актуальность. Об этом свидетельствует и настоящая часть 3 Сообщения 4. Как было видно выше, использование критериев “Хилла” в методологических подходах международных и имеющих международный авторитет организаций, включая такие, как ВОЗ, МАИР (IARC), НКДАР ООН, BEIR, NCRP, USEPA и другие, менее значимые, повсеместно. Невозможно также представить себе эпидемиологии самых различных направлений без критериев Хилла. Более того, применение данных критериев выходит за рамки естественнонаучных и медицинских дисциплин: они используются также в социологии и экономике, в юриспруденции и криминалистике, в психиатрии, климатологии и психологии.

Что взамен их при отсутствии контролируемого экспериментального подхода? Наши исследования [11] и упомянутые данные иных авторов

[219, 220] показывают, что в полной мере замены критериям “Хилла” нет, несмотря на все более поздние разработки и на все попытки количественно учесть неопределенности поэтапного эпидемиологического исследования каузации, его ошибки, альтернативные сценарии и т.п.

Изложенное представляется весьма важным и для дисциплин радиационного профиля, включая радиационную эпидемиологию, радиационную гигиену и радиационную безопасность. Есть примеры рассмотрения/использования критериев Хилла этими дисциплинами, но таковых немного (см. выше). Что же касается применения причинных критериев в отечественных дисциплинах, то примеров практически не было найдено, как для радиационной, так и для нерадиационной сфер.

Наше исследование, возможно, выполнено слишком подробно и слишком академически: без сокращений, оглядки на объем, на число ссылок и на компромиссы в плане большей или меньшей важности тех или иных моментов. Мы попытались ввести все, что нам известно и опубликовано по теме в сотнях источниках, включая десятки западных пособий по эпидемиологии, ЕВМ и пр., и сотни работ за семь десятилетий. В результате “ствол” и “главные ветви” структуры излагаемого покрыты, может, слишком пыльным слоем более мелких ответвлений и “листвы” из попутно всплывающих фактов и ассоциаций (нередко важных и интересных). Но много фактов – это не мало фактов, и желающий всегда сможет “оттрясти” это дерево от “листвы”, оставив только главную структуру. Которая во многом отражена в подробной и детализированной рубрикации из заголовков и подзаголовков.

Как было сказано одним автором: “Я бы сам с удовольствием прочитал книгу [на данную тему], но, так как никто такой книги не выпустил, мне пришлось написать ее самому” [222].

## ПРИМЕЧАНИЯ

1. ‘One of the most important papers published in the 20th century with thoughts on the epidemiological basis of disease causation’ [16].

2. ‘Meta-analysis fails to provide objective grounds for intersubjective assessments of hypotheses because numerous decisions must be made when performing a meta-analysis which allow wide latitude for subjective idiosyncrasies to influence its outcome. I end by suggesting that an older tradition of evidence in medicine-the plurality of reasoning strategies appealed to by the epidemiologist Sir Bradford Hill-is a superior strategy for assessing a large volume and diversity of evidence’ [17].

3. “Уметь: – оценивать реальные и потенциальные как опасность (вред), так и благоприятные эффекты различных видов ионизирующих излучений; – правильно рассчитывать и оценивать причинно-следственную закономерность абсолютных и относительных рисков малых доз радиации в радиационном канцерогенезе (прежде всего, лейкемий и рака щитовидной железы у детей), генетической и соматической патологии с обязательным использованием *девяти постулатов Хилла* и многофакторного анализа на базе когортных и case-control исследований...” [213].

4. ‘We found overlap across the approaches and Bradford Hill viewpoints, underscoring Bradford Hill viewpoints’ enduring importance’; ‘...to elucidate Bradford Hill viewpoints, which remain fundamental to causal assessment’; ‘The comparisons highlight the overlap between Bradford Hill viewpoints and other approaches. This underscores the ongoing influence of Bradford Hill viewpoints in causal assessment alongside developments in causal thinking’ [220].

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Автор приносит глубокую благодарность профессорам А.В. Рубановичу и С.А. Гераськину за важные замечания, дополнения, внимание к настоящему исследованию 2019–2022 гг. и поддержку.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ И ВОЗМОЖНОСТЬ СУБЪЕКТИВНЫХ УКЛОНОВ

Конфликт интересов отсутствует. Представленное 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.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *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. [*Koterov 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 Russ. Engl. abstr.)]. *Koterov 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 // Biol. Bull. (Moscow). 2019. V. 46. № 11. P. 1458–1488. <https://doi.org/10.1134/S1062359019110165>. <https://doi.org/10.1134/S0869803119010065>
2. *Котеров А.Н.* Критерии причинности в медико-биологических дисциплинах: история, сущность и радиационный аспект. Сообщение 2. Постулаты Генле–Коха и критерии причинности неинфекционных патологий до Хилла // Радиационная биология. Радиоэкология. 2019. Т. 59. № 4. С. 341–375. [*Koterov A.N.* Causal criteria in medical and biological disciplines: history, essence and radiation aspect. Report 2. Henle–Koch postulates and criteria for causality of non-communicable pathologies before Hill // Radiats. Biol. Radioecol. (‘Radiation biology. Radioecology’, Moscow). 2019. V. 59. № 4. P. 341–375. (In Russ. Engl. abstr.)] <https://doi.org/10.1134/S0869803119040052>
3. *Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Зубенкова Э.С. и др.* Сила связи. Сообщение 1. Градации относительного риска // Мед. радиология и радиац. безопасность. 2019. Т. 64. № 4. С. 5–17. [*Koterov A.N., Ushenkova L.N., Zubenkova E.S. et al.* Strength of association. Report 1. Graduation of relative risk // Medits. Radiologiya Radiat. Bezopasnost (‘Medical Radiology and Radiation Safety’; Moscow). 2019. V. 64. № 4. P. 5–17. (In Russ. Engl. abstr.)] [https://doi.org/10.12737/article\\_5d1adb25725023.14868717](https://doi.org/10.12737/article_5d1adb25725023.14868717)
4. *Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Молодцова и др.* Сила связи. Сообщение 2. Градации величины корреляции // Мед. радиология и радиац. безопасность. 2019. Т. 64. № 6. С. 12–24. [*Koterov A.N., Ushenkova L.N., Molodtsova D.V. et al.* Strength of association. Report 2. Graduation of correlation size // Medits. Radiologiya Radiat. Bezopasnost (‘Medical Radiology and Radiation Safety’; Moscow). 2019. V. 64. № 6. P. 12–24. (In Russ. Engl. abstr.)] <https://doi.org/10.12737/1024-6177-2019-64-6-12-24>
5. *Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Бiryukov А.П.* Критерий Хилла “Временная зависимость”. Обратная причинность и ее радиационный аспект // Радиационная биология. Радиоэкология. 2020. Т. 60. № 2. С. 115–152. [*Koterov A.N., Ushenkova L.N., Biryukov A.P.* Hill’s criteria ‘Temporality’. Reverse causation and its radiation aspect // Radiats. Biol. Radioecol. (‘Radiation biology. Radioecology’, Moscow). 2020. V. 60. № 2. P. 115–152. (In Russ. Engl. abstr.)]. *Koterov A.N., Ushenkova L.N., Biryukov A.P.* Hill’s Temporality criterion: reverse causation and its radiation aspect // Biol. Bull. (Moscow). 2020. T. 47. № 12. С. 1–33. <https://doi.org/10.1134/S1062359020120031>. <https://doi.org/10.31857/S086980312002006X>
6. *Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Бiryukov А.П.* Критерий Хилла “Биологическое правдоподобие”. Интеграция данных из различных дисциплин в эпидемиологии и радиационной эпидемиологии // Радиационная биология. Радиоэкология. 2020. Т. 60. № 5. С. 453–480. [*Koterov A.N., Ushenkova L.N., Biryukov A.P.* Hill’s criteria ‘Biological plausibility’. The data

- integration from different disciplines in Epidemiology and Radiation Epidemiology // Radiats. Biol. Radioecol. ('Radiation biology. Radioecology', Moscow). 2020. V. 60. № 5. P. 453–480. (In Russ. Engl. abstr.)] <https://doi.org/10.31857/S0869803120050069>
7. *Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Бирюков А.П.* Критерий Хилла “Эксперимент”. Контрафактический подход в дисциплинах нерадиационного и радиационного профиля // Радиационная биология. Радиоэкология. 2020. Т. 60. № 6. С. 565–594. [*Koterov A.N., Ushenkova L.N., Biryukov A.P.* Hill's criteria 'Experiment'. The counterfactual approach in non-radiation and radiation sciences // 'Radiats. Biol. Radioecol. ('Radiation biology. Radioecology', Moscow). 2020. V. 60. № 6. P. 565–594. (In Russ. Engl. abstr.)] <https://doi.org/10.31857/S0869803120060193>
  8. *Котеров А.Н.* Критерии причинности в медико-биологических дисциплинах: история, сущность и радиационный аспект. Сообщение 3. Часть 1: Первые пять критериев Хилла: использование и ограничения // Радиационная биология. Радиоэкология. 2021. Т. 61. № 3. С. 300–332. [*Koterov A.N.* Causal criteria in medical and biological disciplines: history, essence and radiation aspect. Report 3, Part 1: First five Hill's criteria: use and limitations // Radiats. Biol. Radioecol. ('Radiation biology. Radioecology', Moscow). 2021. V. 61. № 3. P. 300–332. (In Russ. Engl. abstr.)] <https://doi.org/10.31857/S0869803121030085>
  9. *Котеров А.Н.* Критерии причинности в медико-биологических дисциплинах: история, сущность и радиационный аспект. Сообщение 3. Часть 2: Последние четыре критерия Хилла: использование и ограничения // Радиационная биология. Радиоэкология. 2021. Т. 61. [*Koterov A.N.* Causal criteria in medical and biological disciplines: history, essence and radiation aspect. Report 3, Part 2: Last four Hill's criteria: use and limitations // Radiats. Biol. Radioecol. ('Radiation biology. Radioecology', Moscow). 2021. V. 61. (In Russ. Engl. abstr.)]
  10. *Котеров А.Н.* Критерии причинности в медико-биологических дисциплинах: история, сущность и радиационный аспект. Сообщение 4. Часть 1: Критерии после Хилла: и экологические критерии // Радиационная биология. Радиоэкология. 2021. Т. 61. [*Koterov A.N.* Causal criteria in medical and biological disciplines: history, essence and radiation aspect. Report 4, Part 1: Post Hill criteria and ecological Criteria // Radiats. Biol. Radioecol. ('Radiation biology. Radioecology', Moscow). 2021. V. 61. (In Russ. Engl. abstr.)]
  11. *Котеров А.Н.* Критерии причинности в медико-биологических дисциплинах: история, сущность и радиационный аспект. Сообщение 4. Часть 2: Иерархия критериев, их критика и иные методы установления причинности. // Радиационная биология. Радиоэкология. 2021. Т. 61. [*Koterov A.N.* Causal criteria in medical and biological disciplines: history, essence and radiation aspect. Report 4, Part 2: Hierarchy of criteria, their criticism and other methods for causation establishing // Radiats. Biol. Radioecol. ('Radiation biology. Radioecology', Moscow). 2021. V. 61. (In Russ. Engl. abstr.)]
  12. *Hill A.B.* The environment and disease: association or causation? // Proc. R. Soc. Med. 1965. V. 58. № 5. P. 295–300. <https://doi.org/10.1177/0141076814562718>
  13. *Hume D.* A Treatise of Human Nature. 2nd Edition. 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.
  14. *Hume D.* An Enquiry Concerning Human Understanding. — Open Court Press, LaSalle, 1748 (reprint 1888). *Юм Д.* Сочинения в 2 т. Т. 2: Пер. с англ. С.И. Церетели и др. 2-е изд., дополн. и испр. М.: Мысль, 1996. 733 с. (цитата о контрафактической причинности: с. 65–66).
  15. *Mill J.S.* A System of Logic, Ratiocinative and Inductive: Being a Connected View of the Principles of Evidence, and the Methods of Scientific Investigation. 1843. Cambridge University Press, 2011. 602 p. *Милль Дж.С.* Система логики силлогистической 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.
  16. *Shakir S.A., Layton D.* Causal association in pharmacovigilance and pharmacoepidemiology: thoughts on the application of the Austin Bradford-Hill criteria // Drug Saf. 2002. V. 25. № 6. P. 467–471. <https://doi.org/10.2165/00002018-200225060-00012>
  17. *Stegenga J.* Is meta-analysis the platinum standard of evidence? // Stud. Hist. Philos. Biol. Biomed. Sci. 2011. V. 42. № 4. P. 497–507. <https://doi.org/10.1016/j.shpsc.2011.07.003>
  18. *Sturmberg J.P.* Evidence-based medicine — not a panacea for the problems of a complex adaptive world // J. Eval. Clin. Pract. 2019. V. 25. № 5. P. 706–716. <https://doi.org/10.1111/jep.13122>
  19. *Geneletti S., Gallo V., Porta M. et al.* Assessing causal relationships in genomics: From Bradford-Hill criteria to complex gene-environment interactions and directed acyclic graphs // Emerg. Themes Epidemiol. 2011. V. 8. № 1. Article 5. 18 p. <https://doi.org/10.1186/1742-7622-8-5>
  20. *Aiello A.E., Larson E.L.* Causal inference: the case of hygiene and health // Am. J. Infect. Control. 2002. V. 30. № 8. P. 503–511. <https://doi.org/10.1067/mic.2002.124585>
  21. Pharmacoepidemiology / Ed. B.L. Strom. 3rd Edition. Baffins Lane, Chichester, West Sussex: John Wiley & Sons Ltd, 2000. 858 p.
  22. *Greenhalgh T.* The Basics of Evidence Based Medicine. 2nd Edition. London, UK: BMJ Books, 2001. 222 p. *Гринхальх Т.* Основы доказательной медицины: Пер. сангл. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. 240 с.
  23. *Howick J., Glasziou P., Aronson J.K.* The evolution of evidence hierarchies: what can Bradford Hill's 'guide-

- lines for causation' contribute? // *J. R. Soc. Med.* 2009. V. 102. № 5. P. 186–194.  
<https://doi.org/10.1258/jrsm.2009.090020>
24. *Goodman S.N., Gerson J.* Mechanistic Evidence in Evidence-Based Medicine: A Conceptual Framework. Research White Paper (Prepared by the Johns Hopkins University Evidence-based Practice Center under Contract No. 290-2007-10061-1) / Ed. by Agency for Healthcare Research and Quality (US). AHRQ Publication No. 13-EHC042-EF. Rockville, MD: Agency for Healthcare Research and Quality. 2013. 123 p. [www.effectivehealthcare.ahrq.gov/reports/final.cfm](http://www.effectivehealthcare.ahrq.gov/reports/final.cfm) (address data 24.03.2021).
  25. OCEBM 2011. Explanation of the 2011 Oxford Centre for Evidence-Based Medicine. Background document. Centre for Evidence-Based Medicine. University of Oxford. 2011. 8 p. <https://www.cebm.ox.ac.uk/resources/levels-of-evidence/explanation-of-the-2011-ocb-ml-levels-of-evidence> (address data 31.03.2021).
  26. *Goodman S.N., Samet J.M.* Cause and Cancer Epidemiology // *Schottenfeld and Fraumeni Cancer Epidemiology and Prevention* / Eds M.J. Thun, M.S. Linet, J.R. Cerhan, C. Haiman, D. Schottenfeld. Fourth edition. New York: Oxford University Press. Printed by Sheridan Books, Inc., USA, 2018. P. 97–104.
  27. *Saunders P.* The Bradford Hill criteria applied to climate change & GMOs // *Science in Society Archive*. 2010. <http://www.i-sis.org.uk/TheBradfordHillCriteria.php> (address data 24.03.2021).
  28. *Arbuthnott K., Hajat S., Heaviside C. et al.* What is cold-related mortality? A multi-disciplinary perspective to inform climate change impact assessments // *Environ. Int.* 2018. V. 121. Pt. 1. P. 119–129.  
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.08.053>
  29. *Van Reekum R., Streiner D.L., Conn D.K.* Applying Bradford Hill's criteria for causation to neuropsychiatry: challenges and opportunities // *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* 2001. V. 13. № 3. P. 318–325.  
<https://doi.org/10.1176/jnp.13.3.318>
  30. *Amoroso T.* The spurious relationship between ecstasy use and neurocognitive deficits: A Bradford Hill review // *Int. J. Drug Policy*. 2019. V. 64. P. 47–53.  
<https://doi.org/10.1016/j.drugpo.2018.11.002>
  31. *Potischman N., Weed D.L.* Causal criteria in nutritional epidemiology // *Am. J. Clin. Nutr.* 1999. V. 69. № 6. P. 1309S–1314S.  
<https://doi.org/10.1093/ajcn/69.6.1309S>
  32. *Coughlin S.S.* Causal Inference and Scientific Paradigms in Epidemiology. Bentham E-book. 2010. 70 p. <https://doi.org/10.2174/97816080518161100101>.  
<https://ebooks.benthamscience.com/book/9781608051816/> (address data 24.03.2021).
  33. *Biesalski H.K., Aggett P.J., Anton R. et al.* // Scientific Substantiation of Health Claims: Evidence-Based Nutrition. 26th Hohenheim Consensus Conference, September 11, 2010 // *Nutrition*. 2011. V. 27. № 10. Suppl. S1–S20.  
<https://doi.org/10.1016/j.nut.2011.04.002>
  34. *Olsen J., Jensen U.J.* Causal criteria: time has come for a revision // *Eur. J. Epidemiol.* 2019. V. 34. № 6. P. 537–541.  
<https://doi.org/10.1007/s10654-018-00479-x>
  35. *Manu P., Correll C.U., Wampers M.* Markers of inflammation in schizophrenia: association vs. causation // *World Psychiatry*. 2014. V. 13. № 2. P. 189–192.  
<https://doi.org/10.1002/wps.20117>
  36. *Ohlsson H., Kendler K.S.* Applying causal inference methods in psychiatric epidemiology: a review // *JAMA Psychiatry*. 2020. V. 77. № 6. P. 637–644.  
<https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2019.3758>
  37. *Merrill R.M., Frankenfeld C.L., Freeborne N., Mink M.* Behavioral Epidemiology. Principles and Applications. Burlington: Jones & Bartlett Learning, LLC, 2016. 298 p.
  38. *Large M.M., Chung D.T., Davidson M. et al.* In-patient suicide: selection of people at risk, failure of protection and the possibility of causation // *B. J. Psych. Open*. 2017. V. 3. № 3. P. 102–105.  
<https://doi.org/10.1192/bjpo.bp.116.004309>
  39. *Schultz M., Beattie M., Gorely T., Leung J.* Assessment of causal link between psychological factors and symptom exacerbation in inflammatory bowel disease: a systematic review utilising Bradford Hill criteria and meta-analysis of prospective cohort studies // *Syst. Rev.* 2020. V. 9. Article 169.  
<https://doi.org/10.1186/s13643-020-01426-2>
  40. *Wakeford R., Antell B.A., Leigh W.J.* A review of probability of causation and its use in a compensation scheme for nuclear industry workers in the United Kingdom // *Health Phys.* 1998. V. 74. № 1. P. 1–9.  
<https://doi.org/10.1097/00004032-199801000-00001>
  41. NCRP 1994. Science and judgment in risk assessment // National Research Council. Washington, DC: National Academy Press, 1994. 672 p.  
<https://doi.org/10.17226/2125>
  42. *Ulsh B.A.* The new radiobiology: returning to our roots // *Dose Response*. 2012. V. 10. № 4. P. 593–609.  
<https://doi.org/10.2203/dose-response.12-021>
  43. *Shleien B., Ruttenber A.J., Sage M.* Epidemiologic studies of cancer in populations near nuclear facilities // *Health Phys.* 1991. V. 61. № 6. P. 699–713.  
<https://doi.org/10.1097/00004032-199112000-00001>
  44. *Fairlie I.* Commentary: childhood cancer near nuclear power stations // *Environ. Health*. 2009. V. 8. Art. 43. 12 p.  
<https://doi.org/10.1186/1476-069X-8-43>
  45. *Boice J.D. Jr, Miller R.W.* Childhood and adult cancer after intrauterine exposure to ionizing radiation // *Teratol.* 1999. V. 59. № 4. P. 227–233.  
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9926\(199904\)59:4<227::AID-TERA7>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9926(199904)59:4<227::AID-TERA7>3.0.CO;2-E)
  46. UNSCEAR 2006. Report to the General Assembly, with Scientific Annexes. Annex A. Epidemiological

- studies of radiation and cancer. New York: United Nations. 2008. P. 17–322.
47. UNSCEAR 2012. Report to the General Assembly, with Scientific Annexes. Annex A. Attributing health effects to ionizing radiation exposure and inferring risks. New York: United Nations, 2015. 86 p.
  48. UNSCEAR 2017. Report to the General Assembly, with Scientific Annexes. Annex B. Epidemiological studies of cancer risk due to low-dose-rate radiation from environmental sources. New York: United Nations, 2018. P. 65–184.
  49. National Research Council (NRC), Division on Earth and Life Studies, Board on Radiation Effects Research, Committee to Assess Health Risks from Exposure to Low Levels of Ionizing Radiation. Health Risks from Exposure to Low Levels of Ionizing Radiation: BEIR VII. Phase 2. National Academies Press, 2006. 422 p.
  50. IARC 2012. Radiation. A review of human carcinogens. V. 100 D. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Lyon, France, 2012. 341 p.
  51. *Martinez-Betancur O.* Causal judgment by Sir Austin Bradford Hill criteria: leukemias and radiation // *Revista de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia.* 2010. V. 58. № 3. P. 236–249. (In Span.)
  52. *Иванов Е.П.* Эффекты малых доз. Учебная программа для специальности 1-31 05 03 “Химия высоких энергий”. БГУ, 2016. 23 с. [*Ivanov E.P.* Low dose effects. Curriculum for specialty 1-31 05 03 ‘Chemistry of high energies’. Belarusian State University, 2016. 23 p. (In Russ.)] <https://elib.bsu.by> (address data 24/03/2021).
  53. *Broadhead W.E., Kaplan B.H., James S.A. et al.* The epidemiologic evidence for a relationship between social support and health // *Am. J. Epidemiol.* 1983. V. 117. № 5. P. 521–537. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a113575>
  54. *Lucas R.M., McMichael A.J.* Association or causation: evaluating links between ‘environment and disease’ // *Bull. World Health Organ.* 2005. V. 83. № 10. P. 792–795.
  55. *Evans D.W., Lucas N., Kerry R.* Time, space and form: necessary for causation in health, disease and intervention? // *Med. Health Care Philos.* 2016. V. 19. № 2. P. 207–213. <https://doi.org/10.1007/s11019-015-9662-5>
  56. Public Affairs Committee of the Teratology Society. Causation in teratology-related litigation // *Birth Defects Res. A. Clin. Mol. Teratol.* 2005. V. 73. № 6. P. 421–423. <https://doi.org/10.1002/bdra.20139>
  57. *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/10.1191/0960327105ht517oa>
  58. *James R.C., Britt J.K., Halmes N.C., Guzelian P.S.* Evidence-based causation in toxicology: a 10-year retrospective // *Hum. Exp. Toxicol.* 2015. V. 34. № 12. P. 1245–1252. <https://doi.org/10.1177/0960327115601767>
  59. European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECETOC). Framework for the integration of human and animal data in chemical risk assessment. TR. Brussels, Belgium: European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals, 2009. 124 p.
  60. International Programme on Chemical Safety (IPCS). IPCS workshop on issues in cancer risk assessment. Fraunhofer Institute of Toxicology and Aerosol Research. Hannover, Germany, 27–30 January 1998. Geneva: World Health Organization, 1998. 11 p.
  61. International Programme on Chemical Safety (IPCS). IPCS workshop on developing a conceptual framework for cancer risk assessment. Lyon, France, 16–18 February 1999. IPCS/99.6. Meeting Report. Geneva: World Health Organization, 1999. 17 p.
  62. *Crislip M.* Causation and Hill’s criteria // Portal ‘Science-Based-Medicine’. 2010. <https://sciencebasedmedicine.org/causation-and-hills-criteria/> (address data 24.03.2021).
  63. *Moraes R., Gerhard P., Andersson L. et al.* Establishing causality between exposure to metals and effects on fish // *Human. Ecol. Risk Assess.* 2003. V. 9. № 1. P. 149–169. <https://doi.org/10.1080/713609857>
  64. *Asokan G.V., Asokan V.* Bradford Hill’s criteria, emerging zoonoses, and One Health // *J. Epidemiol. Glob. Health.* 2016. V. 6. № 3. P. 125–129. <https://doi.org/10.1016/j.jegh.2015.10.002>
  65. *Russom C.L., LaLone C.A., Villeneuve D.L., Ankley G.T.* Development of an adverse outcome pathway for acetylcholinesterase inhibition leading to acute mortality // *Environ. Toxicol. Chem.* 2014. V. 33. № 10. P. 2157–2169. <https://doi.org/10.1002/etc.2662>
  66. *Schoeny R., Haber L., Dourson M.* Data considerations for regulation of water contaminants // *Toxicology.* 2006. V. 221. № 2–3. P. 217–224. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2006.01.019>
  67. *Bhopal R.S.* Concepts of Epidemiology: Integrated the ideas, theories, principles and methods of epidemiology. Third edition. Oxford: University Press, 2016. 442 p.
  68. *Frerot M., Lefebvre A., Aho S. et al.* What is epidemiology? Changing definitions of epidemiology 1978–2017 // *PLoS One.* 2018. V. 13. № 12. Article e0208442. 27 p. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208442>
  69. *Field Epidemiology* / Ed. M.B. Gregg. 3rd Edition. Oxford University Press, 2008. 572 p.
  70. *Forensic Epidemiology in the Global Context* / Ed. S. Loue. New York: Springer, 2013. 157 p.
  71. *Freeman M.D., Cahn P.J., Franklin F.A.* Applied forensic epidemiology, part 1: medical negligence // *Epidemiology.* 2014. V. 18. № 2. Pt. 1. Art. 2. 11 p. <http://www.oapublishinglondon.com/article/1218> (дата обращения 17.01.2019).

72. *Cole P.* The epidemiologist as an expert witness // *J. Clin. Epidemiol.* 1991. V. 44. Suppl. 1. P. 35S–39S. [https://doi.org/10.1016/0895-4356\(91\)90173-7](https://doi.org/10.1016/0895-4356(91)90173-7)
73. *Cole P.* Causality in epidemiology, health policy and law // *Environ. Law Reporter.* 1997. V. 27. № 6. P. 10279–10285.
74. *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.
75. *Glass T.A., Goodman S.N., Hernan M.A., Samet J.M.* Causal inference in public health // *Annu. Rev. Public Health.* 2013. V. 34. P. 61–75. <https://doi.org/10.1146/annurev-publhealth-031811-124606>
76. *Fletcher R.H., Fletcher S.W., Wagner E.H.* *Clinical Epidemiology: The Essentials.* 3rd Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1996. 276 p. *Флетчер Р., Флетчер С., Вагнер Э.* Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины: Пер. с англ. М.: Медиа Сфера. 1998. 352 с.
77. *Clinical Epidemiology. Practice and Methods* / Eds P.S. Parfrey, B.J. Barrett. 2nd Edition. New York: Humana Press (brand of Springer), 2015. 533 p.
78. *Handbook of Epidemiology* / Eds W. Ahrens, I. Pigeot. 2nd Edition. New York, Heidelberg, Dordrecht, London: Springer, 2014. 2498 p.
79. *Greenberg R.S., Sweat M.D., Brady K.T. et al.* *Medical Epidemiology. Population Health and Effective Health Care* / Ed. by R.S. Greenberg with co-authors. New York etc.: McGraw Hill Education, 2015. 600 p.
80. *Bennett W.P., Hussain S.P., Vahakangas K.H. et al.* Molecular Epidemiology of human cancer risk: gene-environment interactions and p53 mutation spectrum in human lung cancer // *J. Pathol.* 1999. V. 187. № 1. P. 8–18. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9896\(199901\)187:1<8::AID-PATH232>3.0.CO;2-Y](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9896(199901)187:1<8::AID-PATH232>3.0.CO;2-Y)
81. *Fedak K.M., Bernal A., Capshaw Z.A., Gross S.* Applying the Bradford Hill criteria in the 21st century: how data integration has changed causal inference in molecular epidemiology // *Emerg. Themes Epidemiol.* 2015. V. 12. Article 14. <https://doi.org/10.1186/s12982-015-0037-4>
82. *Monson R.R.* *Occupational Epidemiology.* Florida: Boca Raton: CRC Press, 1980. 219 p.; 2nd Edition. Florida: Boca Raton, CRC Press Inc., 1990. 312 p.
83. *Current Topics in Occupational Epidemiology* / Ed. K.M. Venables. New York: Oxford University Press, 2013. 270 p.
84. *Susser E., Schwartz S., Morabia A., Bromet E.* *Psychiatric Epidemiology: Searching for the Causes of Mental Disorders.* London: Oxford University Press, 2006. 516 p.
85. *Textbook of Psychiatric Epidemiology* / Eds M.T. Tsuang, M. Tohen, P. Jones. 3rd Edition. Wiley, 2011. 660 p.
86. *Handbook of Causal Analysis for Social Research* / Ed. S.L. Morgan. Dordrecht etc.: Springer, 2013. 424 p.
87. *Methods in Social Epidemiology* / Eds J.M. Oakes, J.S. Kaufman. 2nd Edition. San Francisco: Jossey-Bass. A Wiley Brand, 2017. 568 p.
88. *Fox G.A.* Practical causal inference for ecoepidemiologists // *J. Toxicol. Environ. Health.* 1991. V. 33. № 4. P. 359–373. <https://doi.org/10.1080/15287399109531535>
89. *Botti C., Comba P., Forastiere F., Settini L.* Causal inference in environmental epidemiology: the role of implicit values // *Sci. Total Environ.* 1996. V. 184. № 1–2. P. 97–101. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(95\)04994-0](https://doi.org/10.1016/0048-9697(95)04994-0)
90. *Forbes V.A., Calow P.* Applying Weight of Evidence in retrospective ecological risk assessment when quantitative data are limited // *Human Ecol. Risk Assess.* 2002. V. 8. № 7. P. 1625–1640. <https://doi.org/10.1080/20028091057529>
91. *Горбанев С.А., Чащин В.П., Фридман К.Б., Гудков А.Б.* Применение принципов доказательности при оценке причинной связи нарушений здоровья населения с воздействием вредных химических веществ в окружающей среде // *Экология человека.* 2017. № 11. С. 10–17. [*Gorbanev S.A., Chashchin V.P., Fridman K.B., Gudkov A.B.* Operation of evidence-based principles in assessment of causal link between health condition and environmental hazardous substance // *Ekologiya cheloveka (Human Ecology).* 2017. № 11. P. 10–17. (In Russ. Engl. abstr.)]
92. ACGIH. Documentation of the TLVs and BEIs with other worldwide occupational exposure values. CD-ROM 2016. Cincinnati, Ohio: American Conference of Governmental Industrial Hygienists, 2016. (address data 25.03.2021); <https://www.acgih.org/forms/store/ProductForm-Public/documentation-of-the-tlvs-and-beis-with-other-worldwide-occupational-exposure-values-cd-rom-2005-network-version> (address data 20.03.2018).
93. Critical assessment of the technical basis and implementation of the WRPS Hanford Site Waste Tank Farm Industrial Hygiene Program. Center for Toxicology and Environmental Health, LLC, 2016. 68 p. <https://hanfordvapors.com/wp-content/uploads/2017/03/СТЕИ-Tech-Basis-Eval-Report.pdf> (дата обращения 25.03.2021 – not from Russia, only from Western countries).
94. *Berezow A.* ACSH Explains ‘Hill’s Criteria’: determining causality from correlation // *Portal ACSH (American Council on Science and Health).* 2017. <https://www.acsh.org/news/2017/10/31/acsh-explains-hills-criteria-determining-causality-correlation-12013> (address data 25.03.2021).
95. ANSES 2012. Avis et rapport de l’ANSES relatif à l’Etude des liens entre facteurs de croissance, consommation de lait et de produits laitiers et cancers. Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l’Alimentation, de l’Environnement et du Travail. Maisons-Alfort, France:

- ANSES. Avis de l'Anses. Saisine No 2009-SA-0261, 2012. 199 p. (In French.)
96. ANSES 2016. Exposition aux radiofréquences et santé des enfants Avis de l'ANSES Rapport d'expertise collective. Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2016. 274 p. (In French.)
97. ANSES 2017. Illustrations et actualisation des recommandations pour l'évaluation du poids des preuves et l'analyse d'incertitude e l'ANSES. Avis de l'Anses Rapport d'expertise collective. Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2017. 63 p. (In French.)
98. *King J.* Bradford Hill criteria for causal inference // Based on a presentation at the 2015 ANZEA Conference. <https://www.julianking.co.nz/wp-content/uploads/2018/01/150602-BHC-jk5-web.pdf> (address data 25.03.2021).
99. ARPANSA (Australian Radiation Protection and Nuclear Safety Agency). Maximum Exposure Levels to Radiofrequency Fields – 3 kHz to 300 GHz. Radiation Protection Standards. Radiation Protection Series Publication № 3. 2002. 128 p.
100. Smoking and reproductive life. The impact of smoking on sexual, reproductive and child health / Eds D. Carter D., N. Nathanson, C. Seddon et al. British Medical Association. Board of Science and Education & Tobacco Control Resource Centre, 2004. [https://www.rauchfrei-info.de/fileadmin/main/data/Dokumente/Smoking\\_ReproductiveLife.pdf](https://www.rauchfrei-info.de/fileadmin/main/data/Dokumente/Smoking_ReproductiveLife.pdf) (address data 25.03.2021).
101. *Hope B.K., Clarkson J.R.* A strategy for using Weight-of-Evidence methods in ecological risk assessments // Hum. Ecol. Risk Assess. 2014. V. 20. № 2. P. 290–315. <https://doi.org/10.1080/10807039.2013.781849>
102. Federal Contaminated Sites Action Plan (FCSAP). Ecological Risk Assessment Guidance. Library and Archives Canada Cataloguing in Publication, Cat. no. En14-19/1-2013E-PDF, 2013. 219 p.
103. Committee on Diet and Health, National Research Council. Diet and Health: Implications for Reducing Chronic Disease Risk. Washington, DC: National Academy Press, 1989. <https://doi.org/10.17226/1222>
104. *Norris R., Nichols S., Ransom G. et al.* Causal criteria analysis. Methods manual. A systematic approach to evaluate causality in environmental science. Cooperative Research Centre for Freshwater Ecology (CRCFE). 2008. eWater CRC, Australia, 2010. 33 p.
105. “Врачи без границ”. Памятная записка оценки достоверности причинно-следственной связи. Версия 1.0, 03.06.2015. 3 с. [“Doctors Without Borders”. Aide memoire assessing the reliability of causation. version 1.0, 03 June 2015. 3 p. (In Russ.)] <http://www.endtb.org/sites/default/files/2016-06/RUSSIAN%20-%20PV-TB-D03%20-%20Causality%20assessment%20Aide%20Memoire.pdf> (address data 25.03.2021).
106. ECETOC 2009. European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals. Framework for the Integration of Human and Animal Data in Chemical Risk Assessment. TR. Brussels, Belgium: European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals, 2009. 124 p.
107. ECHA 2011. European Chemicals Agency. Guidance on information requirements and chemical safety assessment. Chapter R.4 Evaluation of available information. Version 1.1. Helsinki, Finland: European Chemicals Agency, 2011. 17 p.
108. ECHA 2017. European Chemicals Agency. Guidance on information requirements and chemical safety assessment. Chapter R.7a. Endpoint specific guidance Version 6.0. Helsinki, Finland: European Chemicals Agency, 2017. 610 p.
109. Food and Drug Administration (FDA). Reviewer Guidance: Evaluating the Risks of Drug Exposure in Human Pregnancies. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Biologics Evaluation and Research (CBER), Center for Drug Evaluation and Research. Rockville, Maryland: Clinical/Medical, 2005. 28 p.
110. *Weed D.L.* Analogy in causal inference: rethinking Austin Bradford Hill's neglected consideration // Ann. Epidemiol. 2018. V. 28. № 5. P. 343–346. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2018.03.004>
111. Meyler's Side Effects of Drugs. The International Encyclopedia of Adverse Drug Reactions and Interactions / Ed. J.K. Aronson. 16th Edition. Elsevier Science, 2016. 7674 p.
112. *Tozzi A.E., Asturias E.J., Balakrishnan M.R. et al.* Assessment of causality of individual adverse events following immunization (AEFI): a WHO tool for global use // Vaccine. 2013. V. 31. № 44. P. 5041–5046. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.08.087>
113. *Schunemann H., Hill S., Guyatt G. et al.* The GRADE approach and Bradford Hill's criteria for causation // J. Epidemiol. Community Health. 2011. V. 65. № 5. P. 392–395. <https://doi.org/10.1136/jech.2010.119933>
114. *Linkov I., Massey O., Keisler J. et al.* From ‘Weight of Evidence’ to quantitative data integration using multi-criteria decision analysis and Bayesian methods // ALTEX. 2015. V. 32. № 1. P. 3–8. <https://doi.org/10.14573/altex.1412231>
115. *Carbone M., Klein G., Gruber J., Wong M.* Modern criteria to establish human cancer etiology // Cancer Res. 2004. V. 64. № 15. P. 5518–5524. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-0255>
116. *Breslow N.E., Day N.E.* Statistical methods in cancer research. V. I. The analysis of case-control studies // IARC Sci. Publ. 1980. V. 32. P. 5–338. <http://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Iarc-Scientific-Publications/Statistical-Methods-In-Cancer-Research-Volume-I-The-Analysis-Of-Case-Control-Studies-1980>.

117. IARC 1987. International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Supplement 7, Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs, Volumes 1 to 42. Lyon, 1987. 449 p.
118. IARC 2006. Internal Report No. 07/001. International Agency for Research on Cancer. Report of the advisory group to plan volume 100: a review of human carcinogenesis. Lyon, 6–8 September 2006. Lyon: IARC, 2007. 17 p. Принципы, правила и процедуры, используемые МАИР при оценке риска канцерогенности для человека различных факторов: Пер. с англ. // Вопр. онкологии. 2007. V. 53. № 6. С. 621–641.
119. IARC 2000. International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Ionizing radiation, Part 1: X- and gamma ( $\gamma$ )-radiation, and neutrons. V. 75. Lyon: IARC, 2000. 508 p.
120. IARC 2001. International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Ionizing radiation. Part 2: Some internally deposited radionuclides. V. 78. Lyon: IARC, 2001. 617 p.
121. Russo F., Williamson J. Interpreting causality in the health sciences // Int. Stud. Philos. Sci. 2007. V. 21. № 2. P. 157–170.  
<https://doi.org/10.1080/02698590701498084>
122. Verbeek J. When work is related to disease, what establishes evidence for a causal relation? // Saf. Health Work. 2012. V. 3. № 2. P. 110–116.  
<https://doi.org/10.5491/SHAW.2012.3.2.110>
123. Van Rongen E. NIR Protection Principles. Presentation on 'ICNIRP 8th International NIR Workshop'. Cape Town, South Africa, 9–11 May, 2016. 23 slides.  
[https://www.icnirp.org/cms/upload/presentations/NIR2016/ICNIRP\\_NIR\\_Workshop\\_2016\\_VanRongen\\_Principles.pdf](https://www.icnirp.org/cms/upload/presentations/NIR2016/ICNIRP_NIR_Workshop_2016_VanRongen_Principles.pdf) (address data 30.03.2021).
124. Seed J., Carney E.W., Corley R.A. et al. Overview: using mode of action and life stage information to evaluate the human relevance of animal toxicity data // Crit. Rev. Toxicol. 2005. V. 35. № 8–9. P. 664–672.  
<https://doi.org/10.1080/10408440591007133>
125. Guyton K.Z., Barone S., Jr, Brown R.C. et al. Mode of Action frameworks: a critical analysis // J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev. 2008. V. 11. № 1. P. 16–31.  
<https://doi.org/10.1080/10937400701600321>
126. Meek M.E., Palermo C.M., Bachman A.N. et al. Mode of action human relevance (species concordance) framework: Evolution of the Bradford Hill considerations and comparative analysis of Weight of Evidence // J. Appl. Toxicol. 2014. V. 34. № 6. P. 595–606.  
<https://doi.org/10.1002/jat.2984>
127. 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>
128. Faustman E.M., Gohlke J.M., Ponce R.A. et al. Experimental approaches to evaluate mechanisms of developmental toxicity // Handbook of Developmental Toxicology / Ed. R.D. Hood. New York: CRC Press, 1997. P. 13–41. 2nd Edition. 2006. P. 15–60.
129. Sonich-Mullin C., Fielder R., Wiltse J. et al. International Programme on Chemical Safety. IPCS conceptual framework for evaluating a mode of action for chemical carcinogenesis // Regul. Toxicol. Pharmacol. 2001. V. 34. № 2. P. 146–152.  
<https://doi.org/10.1006/rtph.2001.1493>
130. Suter G.W. II, Norton S.B., Cormier S.M. A methodology for inferring the causes of observed impairments in aquatic ecosystems // Environ. Toxicol. Chem. 2002. V. 21. № 6. P. 1101–1111.  
<https://doi.org/10.1002/etc.5620210602>
131. Meek M.E., Bucher J.R., Cohen S.M. et al. A framework for human relevance analysis of information on carcinogenic modes of action // Crit. Rev. Toxicol. 2003. V. 33. № 6. P. 591–653.  
<https://doi.org/10.1080/713608373>
132. Boobis A.R., Cohen S.M., Dellarco V. et al. IPCS framework for analyzing the relevance of a cancer mode of action for humans // Crit. Rev. Toxicol. 2006. V. 36. № 10. P. 781–792.  
<https://doi.org/10.1080/10408440600977677>
133. Boobis A.R., Doe J.E., Heinrich-Hirsch B. et al. IPCS framework for analyzing the relevance of a noncancer mode of action for humans // Crit. Rev. Toxicol. 2008. V. 38. № 2. P. 87–96.  
<https://doi.org/10.1080/10408440701749421>
134. Meek M.E., Boobis A., Cote I. et al. New developments in the evolution and application of the WHO/IPCS framework on mode of action/species concordance analysis // J. Appl. Toxicol. 2014. V. 34. № 1. P. 1–18.  
<https://doi.org/10.1002/jat.2949>
135. Becker R.A., Patlewicz G., Simon T.W. et al. The adverse outcome pathway for rodent liver tumor promotion by sustained activation of the aryl hydrocarbon receptor // Regul. Toxicol. Pharmacol. 2015. V. 73. № 1. P. 172–190.  
<https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.06.015>
136. Lynch H.N., Loftus C.T., Cohen J.M. et al. Weight-of-Evidence evaluation of associations between particulate matter exposure and biomarkers of lung cancer // Regul. Toxicol. Pharmacol. 2016. V. 82. P. 53–93.  
<https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.10.006>
137. Becker R.A., Dellarco V., Seed J. et al. Quantitative Weight of Evidence to assess confidence in potential modes of action // Regul. Toxicol. Pharmacol. 2017. V. 86. P. 205–220.  
<https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2017.02.017>
138. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. Advances in Causal Understanding for Human Health Risk-Based Decision-Making: Proceedings of a Workshop – in Brief. Washington, DC: The

- National Academies Press, 2018.  
<https://doi.org/10.17226/25004>.  
<https://www.nap.edu/catalog/25004/advances-in-causal-understanding-for-human-health-risk-based-decision-making> (address data 28.03.2021).
139. NHMRC 2015 (National Health and Medical Research Council). NHMRC Information Paper: Evidence on the Effects of Lead on Human Health. Canberra: National Health and Medical Research Council, 2015. 38 p.
140. *Rhomberg L.R., Goodman J.E., Bailey L.A. et al.* A survey of frameworks for best practices in Weight-of-Evidence analyses // *Crit. Rev. Toxicol.* 2013. V. 43. № 9. P. 753–784.  
<https://doi.org/10.3109/10408444.2013.832727>
141. OECD 2012. Proposal for a template and guidance on developing and assessing the completeness of adverse outcome pathways. 17 p.  
<http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/49963554.pdf> (address data 28.03.2021).
142. OECD 2016. Users' Handbook supplement to the Guidance Document for developing and assessing AOPs. Series on Adverse Outcome Pathways, No. 1. Paris: OECD Publishing, 2016. 53 p.  
<https://doi.org/10.1787/5jlv1m9d1g32-en>
143. OECD 2016. Users' Handbook supplement to the Guidance Document for developing and assessing AOPs. OECD Series on Testing & Assessment No. 233. Paris: OECD Publishing, 2016. 62 p.  
[https://one.oecd.org/document/ENV/JM/MONO\(2016\)12/en/pdf](https://one.oecd.org/document/ENV/JM/MONO(2016)12/en/pdf) (address data 28.03.2021).
144. *Vinken M.* The adverse outcome pathway concept: a pragmatic tool in toxicology // *Toxicology.* 2013. V. 312. P. 158–165.  
<https://doi.org/10.1016/j.tox.2013.08.011>
145. *Becker R.A., Ankley G.T., Edwards S.W. et al.* Increasing scientific confidence in adverse outcome pathways: application of tailored Bradford-Hill considerations for evaluating Weight of Evidence // *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2015. V. 72. № 3. P. 514–537.  
<https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.04.004>
146. *Ryan P.* Applying Hill's criteria as a framework for causal inference in observational data. Presentation // Janssen Research and Development Columbia University Medical Center, 2015. 38 slides.  
<https://www.ohdsi.org/wp-content/uploads/2014/07/OHDSI-Ryan-dsru-10jun2015.pdf> (address data 28.03.2021).
147. *Gordis L., Kleinman J.C., Klerman L.V. et al.* Criteria for evaluating evidence regarding the effectiveness of prenatal interventions // *New Perspectives on Prenatal Care* / Eds I.R. Merkatz, J.E. Thompson. New York: Elsevier, 1990. P. 31–38.
148. *Gordis L.* Epidemiology. Fifth edition. Philadelphia: Saunders, Elsevier Inc., 2014. 392 p.
149. *Alexander L.K., Lopes B., Ricchetti-Masterson K., Yeatts K.B.* Causality // *Epidemiologic Research and Information Center (ERIC) Notebook*. 2nd Edition. UNC Gillings School of Global Public Health, 2015. 5 p. [https://sph.unc.edu/files/2015/07/nciph\\_ERIC15.pdf](https://sph.unc.edu/files/2015/07/nciph_ERIC15.pdf) (address data 28.03.2021).
150. *Ward A.C.* The role of causal criteria in causal inferences: Bradford Hill's 'aspects of association' // *Epidemiol. Perspect. Innov.* 2009. V. 6. № 2. 22 p.  
<https://doi.org/10.1186/1742-5573-6-2>
151. UNEP/WHO 2002. Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disrupters. International Programme on Chemical Safety (IPCS) / Eds T. Damstra, S. Barlow, A. Bergman et al. World Health Organization, International Programme on Chemical Safety (WHOIPCS). Geneva: World Health Organization, 2002. 180 p.  
[https://www.who.int/ipcs/publications/new\\_issues/endocrine\\_disruptors/en/](https://www.who.int/ipcs/publications/new_issues/endocrine_disruptors/en/) (address data 28.03.2021).
152. UNEP/WHO 2012. State of the science of endocrine disrupting chemicals / Eds A. Bergman, J.J. Heindel, S. Jobling et al. United Nations Environment Programme and the World Health Organization, 2013. 260 p. <https://www.who.int/ceh/publications/endocrine/en/> (address data 28.03.2021).
153. *Lamb J.C. 4th, Boffetta P., Foster W.G. et al.* Critical comments on the WHO-UNEP State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals – 2012 // *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2014. V. 69. № 1. P. 22–40.  
<https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2014.02.002>
154. *Lamb J.C. 4th, Boffetta P., Foster W.G. et al.* Comments on the opinions published by Bergman et al. (2015) on Critical Comments on the WHO-UNEP State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals (Lamb et al., 2014) // *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2015. V. 73. № 3. P. 754–757.  
<https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.10.029>
155. *Bergman A., Becher G., Blumberg B. et al.* Manufacturing doubt about endocrine disrupter science – A rebuttal of industry-sponsored critical comments on the UNEP/WHO report 'State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals 2012' // *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2015. V. 73. № 3. P. 1007–1017.  
<https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.07.026>
156. UNSCEAR 1994. Report to the General Assembly, with Scientific Annex. Annex F. Epidemiological studies of radiation carcinogenesis. New York, 1994. P. 11–183.
157. 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 No. 1103. Washington DC: U.S. Department of Health, Education and Welfare, 1964. 387 p.  
<https://biotech.law.lsu.edu/cases/tobacco/nbbmq.pdf> (address data 14.12.2020).
158. The Health Consequences of Smoking: A Report of the Surgeon General Rockville, MD: Office of the Surgeon General, US Public Health Service, 2004. 910 p.

159. The Health Consequences of Smoking: 50 Years of Progress: a Report of the Surgeon General. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health, 2014. 1081 p.
160. *Craun G.F., Calderon R.L.* How to interpret epidemiological associations. // Nutrition in Drinking Water. 2005. P. 108–115. WHO. Water Sanitation Gygiene [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/nutrientschap9.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/nutrientschap9.pdf) (address data 28.03.2021).
161. *Martin P., Bladier C., Meek B. et al.* Weight of Evidence for hazard identification: a critical review of the literature // Environ. Health Perspect. 2018. V. 126. № 7. Art. 076001. <https://doi.org/10.1289/EHP3067>
162. USEPA 2000. Stressor Identification Guidance Document. EPA/822/B-00-025. U.S. Environmental Protection Agency. Office of Water and Office of Research and Development. Washington, DC, USA, 246 p.
163. *Collier Z.A., Gust K.A., Gonzalez-Morales B. et al.* A Weight of Evidence assessment approach for adverse outcome pathways // Regul. Toxicol. Pharmacol. 2016. V. 75. P. 46–57. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.12.014>
164. *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>
165. *Hartung T., Luechtefeld T., Maertens A., Kleinsang A.* Integrated testing strategies for safety assessments // ALTEX. 2013. V. 30. № 1. P. 3–18. <https://doi.org/10.14573/altex.2013.1.003>
166. *Poots A.J., Reed J.E., Woodcock T. et al.* How to attribute causality in quality improvement: lessons from epidemiology // BMJ Quality & Safety. 2017. V. 26. № 11. P. 933–937. <https://doi.org/10.1136/bmjqs-2017-006756>
167. *Shea B.J., Grimshaw J.M., Wells G.A. et al.* Development of AMSTAR: a measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews // BMC Med. Res. Methodol. 2007. V. 7. Article 10. 7 p. <https://doi.org/10.1186/1471-2288-7-10>
168. *Kung J., Chiappelli F., Cajulis O.O. et al.* From systematic reviews to clinical recommendations for Evidence-Based Health Care: validation of revised assessment of Multiple Systematic Reviews (R-AMSTAR) for grading of clinical relevance // Open Dent. J. 2010. V. 4. P. 84–91. <https://doi.org/10.2174/1874210601004020084>
169. *Pieper D., Buechter R.B., Li L. et al.* Systematic review found AMSTAR, but not R(evised)-AMSTAR, to have good measurement properties // J. Clin. Epidemiol. 2015. V. 68. № 5. P. 574–583. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2014.12.009>
170. *Gosling J.P., Hart A., Owen H. et al.* A Bayes linear approach to Weight-of-Evidence risk assessment for skin allergy // Bayesian Anal. 2013. V. 8. № 1. P. 169–186. <https://doi.org/10.1214/13-BA807>
171. FAO/WHO 2001. Evaluation of Allergenicity of Genetically Modified Foods. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Allergenicity of Foods Derived from Biotechnology. Food and Agriculture Organization of the United Nations. World Health Organization, 2001. 27 p.
172. *Metcalfe D.D.* Genetically modified crops and allergenicity // Nat. Immunol. 2005. V. 6. № 9. P. 857–860. <https://doi.org/10.1038/ni0905-857>
173. *Khosrovyan A., Rodríguez-Romero A., Antequera Ramos M. et al.* Comparative analysis of two Weight-of-Evidence methodologies for integrated sediment quality assessment // Chemosphere. 2015. V. 120. P. 138–144. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.06.043>
174. *Klimisch H.J., Andreae M., Tillmann U.* A systematic approach for evaluating the quality of experimental toxicological and ecotoxicological data // Regul. Toxicol. Pharmacol. 1997. V. 25. № 1. P. 1–5. <https://doi.org/10.1006/rtph.1996.1076>
175. *Schneider K., Schwarz M., Burkholder I. et al.* ‘ToxR-Tool’, a new tool to assess the reliability of toxicological data // Toxicol. Lett. 2009. V. 189. № 2. P. 138–144. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2009.05.013>
176. *Adami H.O., Berry S.C., Breckenridge C.B. et al.* Toxicology and epidemiology: improving the science with a framework for combining toxicological and epidemiological evidence to establish causal inference // Toxicol. Sci. 2011. V. 122. № 2. P. 223–234. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfr113>
177. Food and Drug Administration (FDA). Guidance for Industry: Evidence-Based Review System for the Scientific Evaluation of Health Claims Final. Washington, DC: U.S. Food and Drug Administration, 2009.
178. *Howick J.* The Philosophy of Evidence-Based Medicine. Chichester: Wiley-Blackwell, 2011. 248 p.
179. *Menzie C., Henning M.H., Cura J. et al.* Special report of the Massachusetts Weight-of-Evidence Workgroup: a Weight-of-Evidence approach for evaluating ecological risks // Hum. Ecol. Risk Assess. 1996. V. 2. P. 277–304. <https://doi.org/10.1080/10807039609383609>
180. *Rhomberg L.* Hypothesis-Based Weight of Evidence: An Approach to Assessing Causation and its Application to Regulatory Toxicology // Risk Anal. 2015. V. 35. № 6. P. 1114–1124. <https://doi.org/10.1111/risa.12206>
181. *Bailey L.A., Nascarella M.A., Kerper L.E., Rhomberg L.R.* Hypothesis-based Weight-of-Evidence evaluation and risk assessment for naphthalene carcinogenesis // Crit. Rev. Toxicol. 2016. V. 46. № 1. P. 1–42. <https://doi.org/10.3109/10408444.2015.1061477>
182. *Van Bilsen J.H., Ronsmans S., Crevel R.W. et al.* Evaluation of scientific criteria for identifying allergenic

- foods of public health importance // Regul. Toxicol. Pharmacol. 2011. V. 60. № 3. P. 281–289.  
<https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2010.08.024>
183. INCa (Institut National du Cancer). Nutrition et prévention primaire des cancers: actualisation des données. Boulogne-Billancourt, France: Institut national du cancer, 2015. 8 p.  
<http://www.e-cancer.fr/Expertises-et-publications/Catalogue-des-publications/Nutrition-et-prevention-primaire-des-cancers-actualisation-des-donnees> (address data 29.03.2021).
184. *Hristozov D.R., Gottardo S., Cinelli M. et al.* Application of a quantitative Weight of Evidence approach for ranking and prioritising occupational exposure scenarios for titanium dioxide and carbon nanomaterials // Nanotoxicology. 2014. V. 8. № 2. P. 117–131.  
<https://doi.org/10.3109/17435390.2012.760013>
185. *Linkov I., Loney D., Cormier S. et al.* Weight-of-Evidence evaluation in environmental assessment: review of qualitative and quantitative approaches // Sci. Total Environ. 2009. V. 407. № 19. P. 5199–5205.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.05.004>
186. USEPA 1997. Rules of thumb for super fund remedy selection. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, 1997.
187. USEPA 2003. A Summary of General Assessment Factors for Evaluating the Quality of Scientific and Technical Information. EPA 100/B-03/001. Washington, DC: Risk Assessment Forum. National Center for Environmental Assessment Office of Research and Development U.S. Environmental Protection Agency, 2003. 18 p.
188. *Kelly M., Morgan A., Ellis S. et al.* Evidence based public health: A review of the experience of the National Institute of Health and Clinical Excellence (NICE) of developing public health guidance in England // Soc. Sci. Med. 2010. V. 71. № 6. P. 1056–1062.  
<https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2010.06.032>
189. National Research Council (NRC). Review of EPA's Integrated Risk Information System (IRIS) Process. Washington, DC: The National Academies Press, 2014. 2 p.
190. *Rooney A.A., Boyles A.L., Wolfe M.S. et al.* Systematic review and evidence integration for literature-based environmental health science assessments // Environ. Health Perspect. 2014. V. 122. № 7. P. 711–718.  
<https://doi.org/10.1289/ehp.1307972>
191. OHAT 2015. Handbook for Conducting a Literature-Based Health Assessment Using OHAT Approach for Systematic Review and Evidence Integration. Office of Health Assessment and Translation (OHAT). Division of the National Toxicology Program. National Institute of Environmental Health Sciences. OHAT, 2015. 94 p.
192. SCENIHR 2012 (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks). Memorandum on the use of the scientific literature for human health risk assessment purposes – Weighing of Evidence and expression of uncertainty. Brussels: European Union, 2012. 46 p.
193. Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions / Eds J.P.T. Higgins, S. Green. Cochrane Book Series. Chichester: The Cochrane Collaboration and John Wiley & Sons Ltd., 2008. 649 p.
194. EFSA (European Food Safety Agency). Application of systematic review methodology to food and feed safety assessments to support decision making // EFSA J. 2010. V. 8. № 6. Article 1637. 90 p.  
<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1637>
195. *Viswanathan M., Ansari M.T., Berkman N.D. et al.* Assessing the Risk of Bias of Individual Studies in Systematic Reviews of Health Care Interventions. Agency for Healthcare Research and Quality Methods Guide for Comparative Effectiveness Reviews. AHRQ Publication No. 12-EHC047-EF, 2012. 33 p.
196. *Woodruff T.J., Sutton P.* Navigation Guide Work Group. An evidence-based medicine methodology to bridge the gap between clinical and environmental health sciences // Health Aff. (Millwood). 2011. V. 30. № 5. P. 931–937.  
<https://doi.org/10.1377/hlthaff.2010.1219>
197. *Woodruff T.J., Sutton P.* The Navigation Guide systematic review methodology: a rigorous and transparent method for translating environmental health science into better health outcomes // Environ. Health Perspect. 2014. V. 122. № 10. P. 1007–1014.  
<https://doi.org/10.1289/ehp.1307175>
198. WCRF/AICR (World Cancer Research Fund and American Institute for Cancer Research). Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Ovarian Cancer. Report. 2014. Continuous Update Project (CUP), 2014. 28 p.
199. WCRF/AICR (World Cancer Research Fund and American Institute for Cancer Research). Diet, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Ovarian Cancer. Report 2014 revised 2018. Continuous Update Project (CUP), 2018. 32 p.
200. *Golan D., Linn S.* From statistical association to scientific causality // Harefuah. 2015. V. 154. № 6. P. 389–393, 403. (In Hebrew.)
201. *Joellenbeck L.M., Landrigan P.J., Larson E.L.* Gulf War Veterans' illnesses: a case study in causal inference // Environ. Res. 1998. V. 79. № 2. P. 71–81.  
<https://doi.org/10.1006/enrs.1998.3873>
202. *McFarlane A.C.* Epidemiological evidence about the relationship between PTSD and alcohol abuse: the nature of the association // Addict Behav. 1998. V. 23. № 6. P. 813–825.  
[https://doi.org/10.1016/s0306-4603\(98\)00098-7](https://doi.org/10.1016/s0306-4603(98)00098-7)
203. *Rothman K.J.* Causes // Am. J. Epidemiol. 1976. V. 104. № 6. P. 587–592.  
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a112335>
204. *Davey Smith G.* Post-modern epidemiology: when methods meet matter // Am. J. Epidemiol. 2019. V. 188. № 8. P. 1410–1419.  
<https://doi.org/10.1093/aje/kwz064>

205. *Moulder J.E., Foster K.R.* Biological effects of power-frequency fields as they relate to carcinogenesis // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1995. V. 209. № 4. P. 309–324.  
<https://doi.org/10.3181/00379727-209-43905a>
206. *Maslanyj M., Lightfoot T., Schuz J. et al.* A precautionary public health protection strategy for the possible risk of childhood leukaemia from exposure to power frequency magnetic fields // *BMC Public Health.* 2010. V. 10. Art. 673. 10 p.  
<https://doi.org/10.1186/1471-2458-10-673>
207. *Repacholi M., Lerchl A., Roosli M. et al.* Systematic review of wireless phone use and brain cancer and other head tumors // *Bioelectromagnetics.* 2012. V. 33. № 3. P. 187–206.  
<https://doi.org/10.1002/bem.20716>
208. *Hardell L., Carlberg M.* Using the Hill viewpoints from 1965 for evaluating strengths of evidence of the risk for brain tumors associated with use of mobile and cordless phones // *Rev. Environ. Health.* 2013. V. 28. № 2–3. P. 97–106.  
<https://doi.org/10.1515/reveh-2013-0006>
209. *Jorgensen T.J.* Strange Glow. The Story of Radiation. Princeton and Oxford: Princeton University Press, 2016. 490 p.
210. *Ulsh B.A.* The new radiobiology: returning to our roots // *Dose Response.* 2012. V. 10. № 4. P. 593–609.  
<https://doi.org/10.2203/dose-response.12-021>
211. *Cardarelli J.J., Ulsh B.A.* It is time to move beyond the Linear No-Threshold Theory for low-dose radiation protection // *Dose Response.* 2018. V. 16. № 3. P. 1–24.  
<https://doi.org/10.1177/1559325818779651>
212. *Gilbert E.S., Little M.P., Preston D.L., Stram D.O.* Issues in interpreting epidemiologic studies of populations exposed to low-dose, high-energy photon radiation // *J. Natl. Cancer Inst. Monogr.* 2020. V. 2020. № 56. P. 176–187.  
<https://doi.org/10.1093/jncimonographs/igaa004>
213. *Котеров А.Н., Жаркова Г.П., Бирюков А.П.* Тандем радиационной эпидемиологии и радиобиологии для практики радиационной защиты // *Мед. радиол. и радиац. безопасность.* 2010. Т. 55. № 4. С. 55–84. [*Koterov A.N., Zharkova G.P., Biryukov A.P.* Tandem of radiation epidemiology and radiobiology for practice and radiation protection // *Medits. Radiologiya Radiat. Bezopasnost* ('Medical Radiology and Radiation Safety'; Moscow). 2010. V. 55. № 5. P. 48–73. (In Engl.)].
214. *Epidemiology using for radiation protection* // *Int. J. Low Radiation.* 2010. V. 7. № 6. P. 473–499.  
<https://doi.org/10.1504/IJLR.2010.037670>
215. *Котеров А.Н.* Основы молекулярной и клеточной радиобиологии // *Ильин Л.А., Рождественский Л.М., Котеров А.Н., Борисов Н.М.* Актуальная радиобиология: Курс лекций. Высшая школа физики / Ред. коллегия серии: В.П. Смирнов (пред.) и др. Вып. 4. М.: Изд. дом МЭИ, 2015. С. 53–132. [*Koterov A.N.* Fundamentals of Molecular and Cellular Radiobiology // *Ilyin L.A., Rozhdestvensky L.M., Koterov A.N., Borisov N.M.* Actual Radiobiology: a Course of Lectures. High School of Physics / Ed. Board Series by V.P. Smirnov (prev.) et al. Issue 4. М.: Publishing House MEI, 2015. P. 53–132. (In Russ.)]
216. *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. [*Koterov 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 Rus. Engl. abstr.)]
217. *Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Бирюков А.П., Уйба В.В.* Риск рака щитовидной железы после воздействия <sup>131</sup>I: объединенный анализ экспериментальных и эпидемиологических данных за семь десятилетий. Сообщение 1. Актуальность проблемы и постановка задач для цикла исследований // *Мед. радиология и радиац. безопасность.* 2016. Т. 61. № 6. С. 25–49. [*Koterov A.N., Ushenkova L.N., Biryukov A.P., Uyba V.V.* Risk of thyroid cancer after exposure to <sup>131</sup>I: combined analysis of experimental and epidemiological data over seven decades. Part 1. Actual problems and statement of tasks for series of researches // *Medits. Radiologiya Radiat. Bezopasnost* ('Medical Radiology and Radiation Safety'; Moscow). 2016. V. 61. № 6. P. 25–49. (In Russ. Engl. abstr.)]
218. *Иванов Е.П.* Эффекты малых доз. Учебная программа для специальности 1-31 05 03 “Химия высоких энергий”. БГУ, 2016. 23 с. [*Ivanov E.P.* Low dose effects. Curriculum for specialty 1-31 05 03 “Chemistry of high energies”. Belarusian State University, 2016. 23 p. (In Russ.)] <https://elib.bsu.by> (address data 03.04.2021).
219. *Shimonovich M., Thomson H., Pearce A., Katikireddi V.* OP115 Improving the assessment of causality in population health: should Bradford Hill be revisited to incorporate developments in causal inference? Thesis of presentation // *J. Epidemiol. Commun. Health.* 2019. V. 73. Suppl 1. P. A54. DOI: 10.1136/jech-2019-SSMabstracts.114.
220. *Shimonovich M., Pearce A., Thomson H. et al.* Assessing causality in epidemiology: revisiting Bradford Hill to incorporate developments in causal thinking // *Eur. J. Epidemiol.* 2020. Dec 16. 15 p.  
<https://doi.org/10.1007/s10654-020-00703-7>
221. *Geneletti S., Gallo V., Porta M. et al.* Assessing causal relationships in genomics: From Bradford-Hill criteria to complex gene-environment interactions and directed acyclic graphs // *Emerg. Themes Epidemiol.* 2011. V. 8. № 1. Article 5. 18 p.  
<https://doi.org/10.1186/1742-7622-8-5>
222. *Кондратов А.М.* Динозавра ищите в глубинах. Л.: Гидрометеоздат, 1985. 45 с. [*Kondratov A.M.* Look for the dinosaur in the depths. Leningrad: Gidrometeoizdat, 1985. 45 p. (In Russian.)]

## **Causal Criteria in Medical and Biological Disciplines: History, Essence and Radiation Aspect. Report 4, Part 3: Breadth of the Use of Criteria in Different Disciplines and Different Organizations**

**A. N. Koterov<sup>a,#</sup>**

<sup>a</sup> *A.I. Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia*

<sup>#</sup> *E-mail: govori1ga@inbox.ru*

Part 3 of Report 4 is the final publication within a cycle of reviews (12 in total) on methods of establishing causality in observational disciplines, on Hill's and other authors' or organizations' causality criteria, about the history of the formation of criteria, their application in various disciplines, including radiation, about its limitations and criticism.

The presented article examines the breadth of the use of the method for assessing the effect causality based on causal criteria ('Hill's criteria'). It was found that the application of this approach, originally developed for epidemiology, is not limited to the framework of only natural sciences: Hill's criteria are also used in sociology and economics, in jurisprudence and forensic science, in psychiatry, climatology, psychology, etc. Many epidemiologies (15 types) provide for the mandatory application of causal criteria, in most cases called the 'Hill criteria'. It was also revealed the widespread inclusion of Hill's criteria in assessing the effect causality by various international and internationally respected organizations: WHO, IARC, UNSCEAR, BEIR, NCRP, USEPA (U.S. EPA), etc.

The significant contribution of Hill's criteria to most of the well-known modern methodologies for assessing the 'Weight of Evidence' (WoE) in epidemiology and evidence-based medicine is shown, as well as the overlap of this approach with other, more recent methodologies for determining causality: K.J. Rothman sufficient component causal model (SSC model), acyclic causal graph model (DAG model) and other methods. Examples of consideration/use of Hill's criteria in the radiation disciplines, including radiation epidemiology, radiation hygiene and radiation safety, are presented.

The conclusion is made about the enduring actuality of the methodology based on the causal criteria including for assessing the radiation dependence of medico-biological effects.

**Keywords:** causal criteria, criteria of A.B. Hill, Epidemiologies, Weight of Evidence, WHO, IARC, UNSCEAR, BEIR, NCRP

УДК 577.1:612.41:612.438:599.323.4:57.084.1:539.1.047

## ИЗУЧЕНИЕ СОСТОЯНИЯ СИСТЕМЫ КРОВИ ПРИ КОНТАКТЕ НЕОБЛУЧЕННЫХ ОСОБЕЙ С ЖИВОТНЫМИ, ПОДВЕРГШИМИСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ

© 2022 г. **И. И. Пелевина**<sup>1</sup>, **И. Н. Когарко**<sup>1</sup>, **Е. А. Пряхин**<sup>2</sup>, **В. В. Петушкова**<sup>1,\*</sup>, **Б. С. Когарко**<sup>1</sup>,  
**Е. А. Нейфах**<sup>1</sup>, **С. С. Андреев**<sup>2</sup>, **О. В. Киторова**<sup>1</sup>, **И. И. Ганеев**<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup> Уральский научно-практический центр радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства России, Челябинск, Россия

\*E-mail: vladapetushkova@yandex.ru

Поступила в редакцию 28.07.2021 г.

После доработки 29.05.2022 г.

Принята к публикации 29.06.2022 г.

Изучен радиационно-индуцированный “эффект свидетеля” на межорганизменном уровне. В эксперименте использованы облученные в дозе 3 Гр и необлученные мыши-“свидетели”, содержавшие совместно в течение 90 сут. У всех животных проведен анализ состояния кроветворных органов (костный мозг, селезенка и тимус), включивший в себя исследование количества ядерных клеток в них, а также оценку массы селезенки и тимуса. Полученные результаты свидетельствуют о наличии “эффекта свидетеля” в ядродержащих клетках костного мозга мышей. У необлученных животных, которых содержали с подвергшимися воздействию ионизирующей радиации мышами в клетке без перегородки, число ядродержащих клеток статистически значимо снижено по сравнению с таковым показателем в группе необлученного контроля ( $t = 2.58$ ;  $p = 0.02$ ). Отмечается эффект существенного повышения числа ядродержащих клеток в костном мозге облученных мышей, находившихся в клетке с перегородкой: этот параметр на 15% больше, чем в группе облученного контроля ( $t = 2.36$ ;  $p = 0.03$ ) – “эффект спасения”. Очевидно, что во всех органах кроветворной системы (костный мозг, тимус и селезенка) отмечаются нарушения, связанные с фактором контакта облученных и необлученных животных. Возможно, что наблюдаемые немишеннные эффекты реализуются на уровне индуцированных изменений в ДНК.

**Ключевые слова:** радиационно-индуцированные клеточные эффекты, взаимодействие облученных и необлученных животных, костный мозг, селезенка, тимус

**DOI:** 10.31857/S0869803122050101

В настоящее время проблема влияния ионизирующей радиации (ИР) на организм и возможность передачи радиационно-индуцированных изменений от облученного организма к организму, не подвергшемуся действию излучения, рассматривается с пристальным вниманием многими исследователями. Ряд полученных данных указывает на реальность такого немишенного эффекта облучения [1–8].

Ранее было показано, что клетки, подвергнутые действию ИР, обладают способностью генерировать сигналы взаимодействия и впоследствии вызывать биологические изменения в прилежащих к ним и находящихся на расстоянии необлученных клетках [9–11]. Это явление, при котором в результате межклеточного взаимодействия или выработки специфических факторов облученными клетками соседние необлученные

клетки ткани отвечают на радиационное воздействие, получило название “эффектов свидетеля” (ЭС). Было установлено, что “эффекты свидетеля” проявляются широким спектром разнообразных изменений в клетках-“свидетелях”, сходных с таковыми, регистрируемыми непосредственно в облученных клетках: индукция сестринских хроматидных обменов, аберраций хромосом, микроядер, апоптоза, геномной нестабильности, митохондриальных дисфункций и т.д. Предполагается, что ЭС реализуются в пределах тканей одного органа [12–14]. Реакции клеток тканей, находящихся на удалении от места облучения, получили название абскопальных эффектов (АЭ). Механизмы АЭ еще менее изучены, и предполагается участие в их реализации иммунной системы и гуморальных факторов [15].

Целью данной работы было выявление изменений в костном мозге, селезенке и тимусе у мышей – участников эксперимента по взаимодействию необлученных и облученных животных в различных условиях (тактильный и обонятельный контакт) спустя 90 сут после радиационного воздействия. Мы предполагали получить новые данные о наличии “эффекта свидетеля” и “эффекта спасения” при вышеуказанных условиях эксперимента для понимания и выработки рабочей гипотезы по вопросу передачи изменений между организмами.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Исследование выполнено на 60 беспородных мышках-самках. В опыте использовали здоровых животных, не подвергавшихся ранее другим экспериментальным воздействиям. Группы формировали методом сплошной выборки. При проведении экспериментальных процедур соблюдались соответствующие международные правила работы с животными [16, 17]. Мыши ( $n = 20$ ) были подвергнуты воздействию ионизирующей радиации в дозе 3 Гр на исследовательской гамма-установке радиобиологической (ИГУР-1М) с четырьмя источниками  $^{137}\text{Cs}$ , мощность дозы 0.79 Гр/мин, неравномерность  $\gamma$ -поля в рабочем пространстве не более 5%. Поглощенная доза для мышей составила 3.0 Гр.

Мыши были рассажены в четыре клетки, в каждой из которых находилось по пять облученных мышей и по пять необлученных особей (мыши-“свидетели”,  $n = 20$ ). В двух из четырех клеток облученные и необлученные мыши могли свободно контактировать друг с другом. В двух других клетках мыши облученной и необлученной групп были разделены металлической сеткой, что исключало их тактильный контакт. Для сравнения были использованы группа интактных особей (необлученный контроль,  $n = 10$ ) и облученные животные (группа сравнения,  $n = 10$ ), каждая из которых содержалась в отдельной клетке. Было получено шесть экспериментальных групп. Эксперимент продолжался 3 мес.

Для решения поставленных задач проведен анализ состояния костного мозга, селезенки и тимуса у облученных мышей и необлученных животных-“свидетелей” после совместного их содержания в течение 90 сут. На 90-е сутки после облучения проводили забой животных, выделяли и взвешивали селезенку, тимус, из бедренной кости вымывали костный мозг. Определяли количество ядродержащих клеток в костном мозге, селезенке, тимусе при помощи гемоцитометра Пикоскель PS-4.

Статистический анализ проводили с помощью  $t$ -критерия Стьюдента. Различия принимали ста-

стистически значимыми при  $p < 0.05$ . Для сравнительного анализа полученных данных выделили следующие влияющие на статус особи факторы: воздействие  $\gamma$ -излучения; срок после начала эксперимента; “фактор контакта” – вид контакта между облученными и необлученными животными.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ состояния у экспериментальных животных кроветворных органов (костный мозг, селезенка и тимус) включал в себя исследование количества ядерных клеток в них, а также оценку массы селезенки и тимуса.

Как видно из табл. 1, масса селезенки в группе необлученного контроля составила  $111 \pm 8$  мг. Была выявлена тенденция к увеличению массы этого органа в группе необлученных мышей, которые содержались совместно с облученными животными, как без перегородки, так и с перегородкой. У облученных животных, содержащихся в клетках без перегородки и с перегородкой совместно с необлученными особями, напротив, наблюдалось уменьшение массы селезенки по сравнению с облученными животными группы сравнения.

Масса тимуса у мышей в группе необлученного контроля составила  $27.2 \pm 1.9$  мг. Статистически значимое снижение этого показателя зарегистрировано как у облученных, так и у необлученных животных, содержащихся в одной клетке без перегородки.

При анализе количества ядерных клеток в костном мозге выявлено, что в группе необлученного контроля этот показатель составил  $21.0 \pm 1.0$  млн ЯСК/бедро (рис. 1). Облучение мышей в дозе 3 Гр (облученные животные группы сравнения) привело к статистически значимому ( $t = 2.78$ ;  $p = 0.01$ ) снижению рассматриваемого показателя (на 17%) по сравнению с таковым в группе необлученного контроля, что определялось на 90-е сутки после экспонирования. Снижение этого параметра зарегистрировано также в группе необлученных животных-“свидетелей”, которых содержали с облученными мышами в одной клетке без перегородки ( $t = 2.58$ ;  $p = 0.02$ ). Более низкое количество ядерных клеток в костном мозге отмечено также у облученных мышей, которых содержали в одной клетке без перегородки с необлученными животными-свидетелями, по сравнению с особями необлученного контроля, однако значение этого показателя не отличалось от такового у облученных животных группы сравнения. Наоборот, количество ядерных клеток в костном мозге облученных мышей, которых содержали с необлученными животными-свидетелями в клетке с перегородкой, статистически зна-

**Таблица 1.** Масса селезенки и тимуса у животных различных экспериментальных групп через 90 сут после начала эксперимента, мг  
**Table 1.** The changes in mass of the spleen and the thymus in animals for different experimental groups on the 90th day after exposure, mg

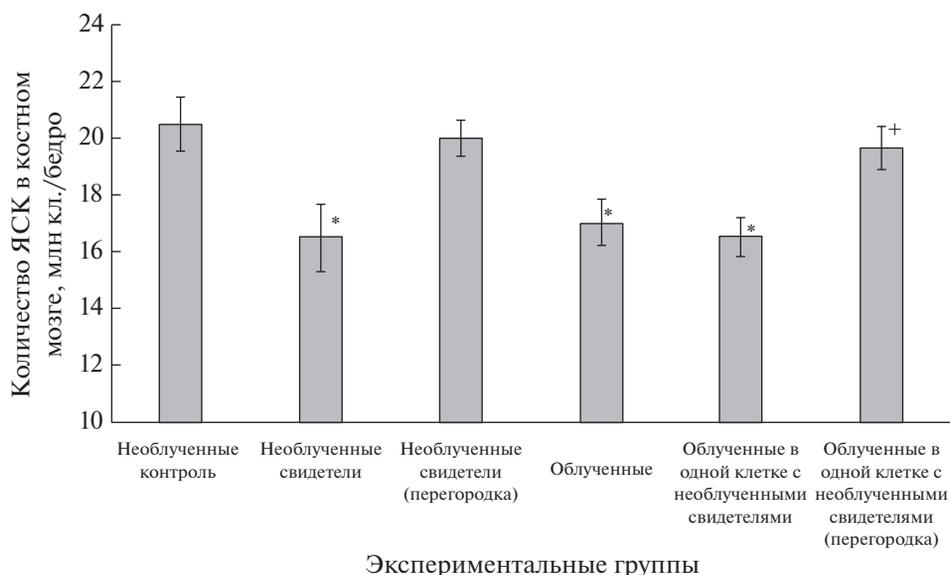
Группы животных	Селезенка	Тимус
Необлученный контроль	111.2 ± 7.7	27.2 ± 1.9
Необлученные свидетели	113 ± 18 <i>t</i> 1 = 0.09; <i>p</i> = 0.93	*20.2 ± 1.8 <i>t</i> 1 = 2.66; <i>p</i> = 0.02
Необлученные свидетели (перегородка)	120.8 ± 6.5 <i>t</i> 1 = 0.95; <i>p</i> = 0.35	26.8 ± 1.6 <i>t</i> 1 = 0.16; <i>p</i> = 0.87
Облученные мыши группы сравнения	101.3 ± 3.9 <i>t</i> 1 = 1.15; <i>p</i> = 0.27	22.8 ± 1.7 <i>t</i> 1 = 1.7; <i>p</i> = 0.11
Облученные мыши в одной клетке с необлученными свидетелями	93.4 ± 4.7 <i>t</i> 1 = 1.97; <i>p</i> = 0.06 <i>t</i> 2 = 1.29; <i>p</i> = 0.21	**18.8 ± 2.0 <i>t</i> 1 = 3.02; <i>p</i> = 0.01 <i>t</i> 2 = 1.51; <i>p</i> = 0.15
Облученные мыши в одной клетке с необлученными свидетелями (перегородка)	95.9 ± 7.1 <i>t</i> 1 = 1.46; <i>p</i> = 0.16 <i>t</i> 2 = 0.67; <i>p</i> = 0.51	24.4 ± 1.6 <i>t</i> 1 = 1.12; <i>p</i> = 0.28 <i>t</i> 2 = 0.68; <i>p</i> = 0.51

Примечание. *t*1 – значение *t*-критерия Стьюдента при сравнении с показателем в группе необлученного контроля; *t*2 – значение *t*-критерия Стьюдента при сравнении со значением показателя у облученных животных группы сравнения; *p* – уровень значимости.

\* Статистически значимые отличия от группы необлученного контроля, *p* < 0.05; \*\* – статистически значимые отличия от животных группы сравнения, *p* < 0.05.

чимо превышало (на 15%) этот показатель в облученной группе сравнения (*t* = 2.36; *p* = 0.03), т.е. наблюдался “эффект спасения” (рис. 1).

При анализе количества ядерных клеток в селезенке (рис. 2) показано, что в группе необлученного контроля значение этого показателя со-

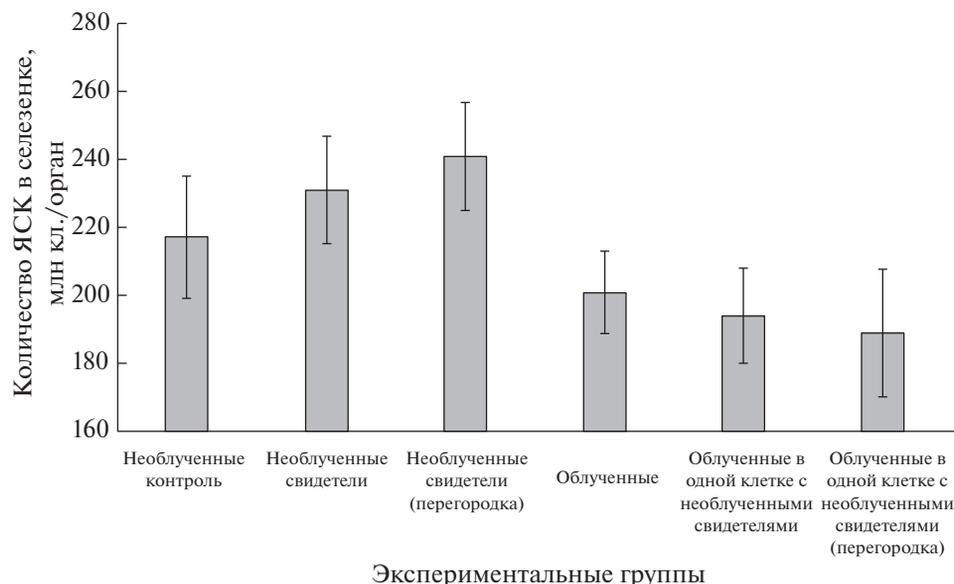


**Рис. 1.** Число ядерных клеток в костном мозге на 90-е сутки после начала эксперимента, млн кл. / бедро.

\* Статистически значимые отличия от группы необлученного контроля, *p* < 0.05; + – статистически значимые отличия от животных группы сравнения, *p* < 0.05.

**Fig. 1.** Number of nuclear cells in the bone marrow on the 90th day after exposure, million cl. / hip.

\* Statistically significant differences from the group of unirradiated control, *p* < 0.05; + – statistically significant differences from animals of the comparison group, *p* < 0.05.



**Рис. 2.** Число ядерных клеток в селезенке на 90-е сутки после начала эксперимента, млн кл./орган.

\* Статистически значимые отличия от группы необлученного контроля,  $p < 0.05$ ; + – статистически значимые отличия от животных группы сравнения,  $p < 0.05$ .

**Fig. 2.** The number of nuclear cells in the spleen on the 90th day after exposure, million cl./spleen.

\* Statistically significant differences from the group of unirradiated control,  $p < 0.05$ ; + – statistically significant differences from animals of the comparison group,  $p < 0.05$ .

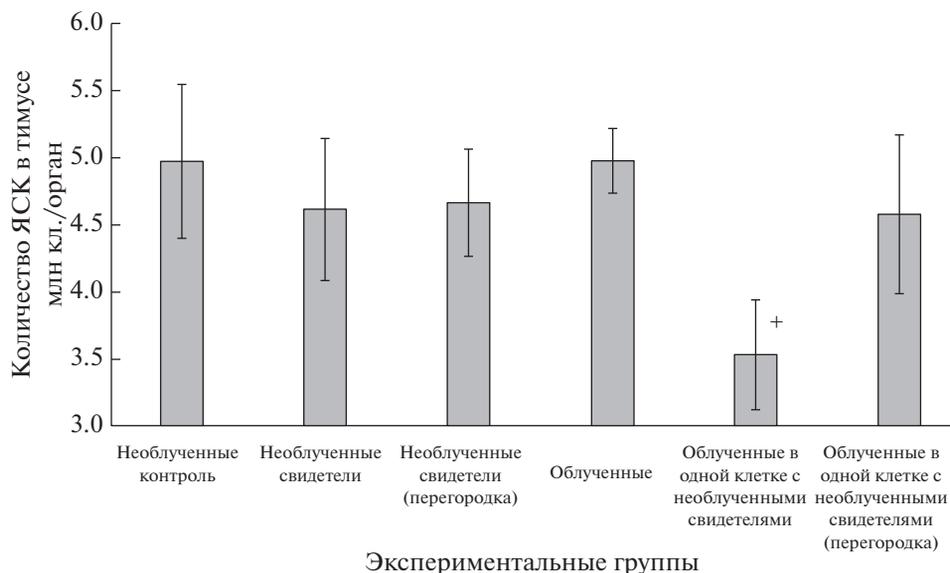
ставило  $217 \pm 18$  млн клеток на орган. У необлученных животных-“свидетелей”, содержащихся в одной клетке с облученными особями, как без перегородки, так и с перегородкой, наблюдали тенденцию к повышению числа ядродержащих клеток ( $231 \pm 16$  и  $241 \pm 10$  млн соответственно). Наименьшие значения рассматриваемого показателя зарегистрированы у экспонированных мышей: в облученной группе сравнения количество ядродержащих клеток составляло  $201 \pm 12$  млн, а в других экспериментальных группах отмечена тенденция к снижению этого значения до  $194 \pm 14$  и  $189 \pm 19$  млн соответственно.

Среднее количество ядерных клеток в тимусе животных группы необлученного контроля составило  $5.0 \pm 0.6$  млн клеток на орган (рис. 3). У облученных мышей (группа сравнения) значение этого показателя практически не отличалось от такого в группе необлученного контроля. Снижение среднего количества ядерных клеток в тимусе зарегистрировано только у облученных мышей, которых содержали в одной клетке без перегородки с необлученными животными-свидетелями. Так, в этой группе среднее значение показателя составило  $3.5 \pm 0.4$  млн клеток на орган, что было статистически значимо меньше, чем в облученной группе сравнения ( $t = 3.01$ ;  $p = 0.01$ ) и отличалось от рассматриваемого параметра в группе необлученного контроля ( $p = 0.056$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ

В зарубежной и отечественной литературе широко обсуждаются различные подходы к оценке последствий воздействия радиации на человека, животных и окружающую среду. Ранее Б.П. Суриновым и соавт. [18] отмечалось изменение иммуномодулирующих и аттрактивных свойств летучих выделений мышей после радиационного воздействия или индукция “эффектов свидетеля”.

В настоящей работе проведена попытка выявить изменения в костном мозге, селезенке и тимусе у мышей, которых содержали в течение 90 сут в одной клетке с облученными в дозе 3 Гр мышами. В этих экспериментах выявлено статистически значимое снижение количества ядродержащих клеток в костном мозге особей, которых содержали в клетке без перегородки с облученными животными. Такие изменения по выраженности были очень близки эффекту внешнего воздействия  $\gamma$ -излучения на мышей в дозе 3 Гр. Крайне важно отметить, что такие отклонения были зарегистрированы в группе, где облученных и необлученных животных содержали в одной клетке без перегородки, и соответственно условия эксперимента предполагали наличие тактильного и обонятельного взаимодействия. В группе, где облученных и необлученных мышей содержали в одной клетке с перегородкой и контакт предполагал только обонятельное взаимо-



**Рис. 3.** Число ядерных клеток в тимусе на 90-е сутки после начала эксперимента, млн кл./орган.

+ Статистически значимые отличия от облученных животных группы сравнения,  $p < 0.05$ .

**Fig. 3.** The number of nuclear cells in the thymus on the 90th day after the start of the experiment, million cl./ thymus.

+ Are statistically significant differences from irradiated animals of the comparison group,  $p < 0.05$ .

действие между особями двух экспериментальных групп, не было выявлено никаких существенных изменений количества ядросодержащих клеток в костном мозге животных – свидетелей. Это позволяет полагать, что для снижения ядросодержащих клеток у мышей, которых содержали в одной клетке с облученными животными, необходим тактильный контакт между особями.

Кроме того, обнаружено, что количество ядросодержащих клеток в костном мозге у облученных животных, которых содержали в клетках с перегородкой с необлученными особями, было статистически значимо (на 15%) больше, чем у облученных животных группы сравнения. Этот результат можно расценивать как “эффект спасения”. Радиационно-индуцированный “эффект спасения” на клеточном уровне относится к явлению, при котором неблагоприятные эффекты в облученных клетках уменьшаются при получении сигналов обратной связи от необлученных клеток или от среды, где культивировали эти интактные клетки [12, 13]. Отсутствие такого эффекта в группе облученных мышей, которых содержали в одной клетке без перегородки с необлученными особями, позволяет предположить, что “эффект спасения” на организменном уровне может быть индуцирован обонятельным контактом между животными. Ранее нами был описан “эффект спасения” при анализе частоты эритроцитов с микроядрами у облученных животных при их совместном содержании в одной клетке

(как с перегородкой, так и без нее) с необлученными мышами [8].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявленные эффекты в виде снижения количества ядросодержащих клеток в костном мозге у необлученных мышей, которых содержали в течение 90 сут в одной клетке с облученными в дозе 3 Гр особями, и повышения количества таких клеток в костном мозге у облученных животных, содержащихся в одной клетке с перегородкой с необлученными мышами, могут быть интерпретированы как проявление “эффекта свидетеля” и “эффекта спасения” на организменном уровне. Такие эффекты позволяют высказать предположение о возможности индукции неблагоприятных и положительных эффектов соответственно у необлученных и облученных животных при их совместном содержании.

Данная работа является одной из первых по изучению последствий воздействия радиации на межорганизменном уровне. Полученные данные являются важным этапом в изучении “немишен-ных эффектов”, в частности, “эффекта свидетеля” и “эффекта спасения” на организменном уровне. В дальнейшем предполагается изучить клеточный состав периферической крови у облученных и необлученных мышей при их совместном содержании.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России (тема 0082-2019-0015, № АААА-А20-120031490003-7), за счет субсидии, выделенной ФИЦ ХФ РАН на выполнение Государственного задания, тема 0082-2019-0015 “Изучение принципов структурно-функциональной организации биомолекулярных систем, разработка методов дизайна их физико-химических аналогов и создание на этой основе биологически активных препаратов нового поколения”, № АААА-А20-120031490003-7. Часть работы выполнена при финансовой поддержке Гранта РФФИ 16-04-00963/18.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Reis P., Lourenco J., Carvalho F. P. et al.* RIBE at an inter-organismic level: A study on genotoxic effects in *Daphnia magna* exposed to waterborne uranium and a uranium mine effluent // *Aquat. Toxicol.* 2018. V. 198. P. 206–214. Epub 2018 Mar 9. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.03.007>
2. *Mothersill C., Smith R.W., Saroya R. et al.* Irradiation of rainbow trout at early life stages results in legacy effects in adults // *Int. J. Radiat. Biol.* 2010. V. 86. № 10. P. 817–828.
3. *Mothersill C., Smith R., Wang J. et al.* Biological Entanglement-Like Effect After Communication of Fish Prior to X-Ray Exposure // *Dose-Response.* 2018. Feb 15. V. 16. № 1. P. 1559325817750067.
4. *Smith R., Wang J., Seymour C. et al.* Homogenous and Microbeam X-Ray Radiation Induces Proteomic Changes in the Brains of Irradiated Rats and in the Brains of Nonirradiated Cage Mate Rats // *Dose-Response.* 2018. Jan 22. V. 16. № 1. P. 1559325817750068. eCollection Jan-Mar 2018. <https://doi.org/10.1177/1559325817750068>
5. *Lam R.K.K., Fung Y.K., Han W. et al.* Rescue Effects: Irradiated Cells Helped by Unirradiated Bystander Cells // *Int. J. Mol. Sci.* 2015. V. 16. P. 2591–2609. <https://doi.org/10.3390/ijms16022591>
6. *Петушкова В.В., Пелевина И.И., Когарко И.Н. и др.* Некоторые аспекты трансляции радиационно-индуцированных изменений при радиационном “эффekte свидетеля” // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2020. Т. 60. № 3 С. 229–238. [*Petushkova V.V., Pelevina I.I., Kogarko I.N. et al.* Radiation-induced Inter-organism Bystander Effects. Some Aspects of the Transmission // *Radiat. Biol. Radioecol.* 2020. V. 60 № 3. P. 229–238. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31857/S0869803120030108>
7. *Petushkova V.V., Pelevina I.I., Kogarko E.A. et al.* Radiation-induced Inter-organism Bystander Effects. Some Aspects of the Transmission // *Biol. Bull.* 2020. V. 47. № 12. P. 1610–1617. <https://doi.org/10.1134/S1062359020120079>
8. *Пелевина И.И., Аклев А.В., Когарко И.Н. и др.* Радиационно-химическое воздействие ионизирующего излучения на организм и генотоксические нарушения системы крови // *Хим. физика* 2021. Т. 40. № 12. С. 48–55. [*Pelevina I.I., Akleev A.V., Kogarko I.N. et al.* Radiation-Chemical Effects of Ionizing Radiation on the Organism and Genotoxic Disorders of the Blood System // *Rus. J. Phys. Chem.* 2021. V. 15. № 6. P. 1046–1053. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31857/S0207401X2112013X>
9. *Nagasawa H., Little J.B.* Induction of Sister Chromatid Exchanges by Extremely Low Doses of  $\alpha$ -Particles // *Cancer Res.* 1992. V. 52. P. 6394–6396.
10. *Mothersill C., Seymour C.* Medium from irradiated human epithelial cells but not human fibroblasts reduces the clonogenic survival of unirradiated cells // *Int. J. Radiat. Biol.* 1997. V. 71. № 4. P. 421–427.
11. *Azzam E.I., Toledo S.M.D., Gooding T., Little J.B.* Inter-cellular communication Is involved in the bystander regulation of gene expression in human cells exposed to very low fluences of alpha particles // *Radiat. Res.* 1998. V. 150. № 5. P. 497–504.
12. *Lehnert B.E., Goodwin E.H.* Extracellular Factor (s) following Exposure to  $\alpha$  particles Can Cause Sister Chromatid Exchanges in Normal Human Cells Chromatid Exchanges in Normal Human Cells // *Cancer Res.* 1997. V. 57. P. 2164–2171.
13. *Prise K.M., Belyakov O.V., Folkard M. et al.* Studies of bystander effects in human fibroblasts using a charged particle microbeam // *Int. J. Radiat. Biol.* 1998. V. 74. № 6. P. 793–798. <https://doi.org/10.1080/095530098141087>
14. *Lyng F.M., Seymour C.B., Mothersill C.* Initiation of apoptosis in cells exposed to medium from the progeny of irradiated cells: a possible mechanism for bystander-induced genomic instability? // *Radiat. Res.* 2002. V. 157. № 4. P. 365–370.
15. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the Protection of Animals Used for Scientific Purposes.
16. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes ETS No. 123, Appendix A <https://www.coe.int/en/web/conventions/full-list/-/conventions/treaty/123>
17. *Burr K., Robinson J.I., Rastogi S. et al.* Radiation-induced delayed bystander-type effects mediated by hemopoietic cells // *Radiat. Res.* 2010. V. 173. № 6. P. 760–768. <https://doi.org/10.1667/RR1937.1>
18. *Суринов Б.П., Исаева В.Г., Духова Н.Н.* Изменение иммуномодулирующих и аттрактивных свойств летучих выделений мышей после радиационного воздействия или индукции “эффектов свидетеля” // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2021 Т. 61 № 1. С. 5–1. [*Surinov B.P., Isaeva V.G., Dukhova N.N.* The changes in immunomodulatory and attractive properties of mice secretions after radiation exposure or induction of the “bystander effects” // *Radiat. Biol. Radioecol.* 2021 V. 61. № 1 P. 5–1. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31857/S0869803121010100>

## Study of the Disorders of the Blood System of Irradiated and Unirradiated Animals Kept in Contact

**I. I. Pelevina<sup>a</sup>, I. N. Kogarko<sup>a</sup>, E. A. Pryakhin<sup>b</sup>, V. V. Petushkova<sup>a, #</sup>, B. S. Kogarko<sup>a</sup>, E. A. Neifakh<sup>a</sup>, S. S. Andreev<sup>b</sup>, O. V. Ktitorova<sup>a</sup>, and I. I. Ganeev<sup>a</sup>**

<sup>a</sup> *Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

<sup>b</sup> *Ural Scientific and Practical Center for Radiation Medicine, Federal Medical and Biological Agency of Russia, Chelyabinsk, Russia*

<sup>#</sup> *E-mail: vladapetushkova@yandex.ru*

Radiation-induced “bystander effects” were studied at the inter-organismal level. The experiment used irradiated at a dose of 3 Gy and non-irradiated bystander mice, kept together for 90 days. An analysis of the state of the bone marrow, spleen and thymus in experimental animals was carried out, which included an assessment of the mass of the spleen and thymus, as well as the number of nuclear cells in the bone marrow, spleen and thymus in mice. The results of the study indicate the presence of a “bystander effect” in the nucleated cells of the bone marrow of mice. In unirradiated animals that were kept with irradiated mice in a cage without a septum, the number of nucleated cells is statistically significantly reduced ( $t = 2.58$ ;  $p = 0.02$ ) compared to the control. There is an effect of increasing the number of nucleated cells in the bone marrow in the group of irradiated mice in a cage with a septum, statistically significant by 15% more than in the gamma control group ( $t = 2.36$ ;  $p = 0.03$ ) – the “rescue effect”. Obviously, in all organs of the hematopoietic system – bone marrow, thymus and spleen – there are violations associated with the factor of contact of animals. It is possible that the observed radiation-induced “nontargeted effects” are realized at the level of induced changes in DNA.

**Keywords:** radiation-induced cellular effects, interaction of irradiated and unirradiated animals, bone marrow, spleen, thymus

УДК 616-006.48:612.014.482:539.1.047

## ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА РАЗВИТИЕ ОПУХОЛЕЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

© 2022 г. М. Б. Мосеева<sup>1,\*</sup><sup>1</sup> Южно-Уральский институт биофизики ФМБА России, Озёрск, Россия

\*E-mail: clinic@subi.su

Поступила в редакцию 03.04.2022 г.

После доработки 24.06.2022 г.

Принята к публикации 29.06.2022 г.

Первичные опухоли (ПО) центральной нервной системы (ЦНС) являются относительно редкой патологией по сравнению с другими новообразованиями у взрослых, но в то же время занимают второе место в структуре онкологической смертности среди лиц моложе 19 лет. В развитых странах в период 1970-х – начало 1990-х годов прошлого столетия отмечался прирост заболеваемости ПО ЦНС, который, по-видимому, был связан с увеличением доступности методов компьютерной томографии и магнитно-резонансной томографии, улучшениями в регистрации доброкачественных новообразований ЦНС и успехами в клинической практике. К настоящему времени, несмотря на то, что проведен ряд исследований, посвященных изучению влияния различных факторов на развитие ПО ЦНС, лишь по некоторым факторам достигнут консенсус среди эпидемиологов. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что ионизирующее излучение является одним из немногих признанных факторов риска ПО ЦНС и единственным модифицируемым фактором. Информация по количественной оценке радиогенного риска развития различных видов ПО ЦНС крайне скудна. В настоящем обзоре показано, что повышенный риск ПО ЦНС обусловлен преимущественно облучением в высоких дозах (терапевтическое, диагностическое, взрыв), а также облучением в детском возрасте. В настоящее время необходимы дополнительные исследования по количественной оценке радиогенного риска развития различных видов ПО ЦНС после облучения в низких дозах, а также у взрослых, подвергшихся облучению.

**Ключевые слова:** центральная нервная система, первичные опухоли, радиогенный риск, смертность, заболеваемость

DOI: 10.31857/S0869803122050083

Первичные опухоли (ПО) центральной нервной системы (ЦНС) включают различные по гистологическому строению, злокачественности и клиническому течению опухоли, общим для которых является происхождение из тканей, составляющих ЦНС и ее оболочки [1]. В различных странах и организациях существуют различия в классификации ПО ЦНС. В Российской Федерации (РФ) согласно клиническим рекомендациям к ПО ЦНС относят следующие заболевания, закодированные в соответствии с Международной статистической классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем 10-го пересмотра [1, 2]:

- C70 Злокачественное новообразование (ЗНО) мозговых оболочек;
- C71 ЗНО головного мозга;
- C72 ЗНО спинного мозга, черепных нервов и других отделов центральной нервной системы;

- D18 Гемангиома любой локализации;
- D32 Доброкачественное новообразование (ДНО) мозговых оболочек;
- D33 ДНО головного мозга и других отделов центральной нервной системы;
- D43 Новообразование неопределенного или неизвестного характера головного мозга и центральной нервной системы.

ПО ЦНС являются относительно редкой патологией по сравнению с другими новообразованиями у взрослых, но в то же время занимают второе место в структуре онкологической смертности среди лиц моложе 19 лет [3]. Другую сложность в исследовании ПО ЦНС составляет гетерогенность различных видов опухолей в плане гистогенеза и течения, что требует их отдельного анализа в эпидемиологических исследованиях. Учитывая вышесказанное, для исследования потенциальных факторов риска ПО ЦНС требуются большая

численность когорт и длительный период наблюдения, из-за чего в большинстве исследований изучаются факторы риска развития глиомы и менингиомы – двух самых распространенных видов опухолей.

#### *Статистические данные*

В развитых странах в период 1970-х – начало 1990-х годов прошлого столетия отмечался прирост заболеваемости ПО ЦНС, который был связан, по мнению большинства авторов, с увеличением доступности методов компьютерной томографии (КТ) и магнитно-резонансной томографии, улучшениями в регистрации ДНО ЦНС и успехами в клинической практике [3, 4].

По данным западных регистров в настоящее время доброкачественные опухоли составляют большую долю всех ПО ЦНС (например, 56% во Франции [3] и 70.9% в США [5]). Среди ЗНО ЦНС преобладает глиобластома (14.3% всех опухолей и 49.1% всех ЗНО), а среди ДНО ЦНС – менингиома (39.0% всех опухолей и 54.5% всех ДНО) [5]. ЗНО ЦНС чаще встречаются у мужчин, ДНО ЦНС – у женщин, у детей гендерные различия менее выражены.

В целом заболеваемость ПО ЦНС возрастает с возрастом [6]. Однако модель роста зависит от гистологического типа опухоли, ее злокачественности. В частности, зависимость заболеваемости злокачественной глиомой от возраста имеет бимодальный характер с пиками в молодом и старшем возрастах, в то время как наибольшая заболеваемость менингиомой регистрируется в возрасте 60–70 лет с последующим снижением.

Отмечается, что заболеваемость различными гистологическими типами ПО ЦНС варьирует в зависимости от расовой принадлежности [3, 6]. Нейроэпителиальные опухоли, включая глиомы, чаще встречаются у европейцев (белые не-испанцы), менингиомы и гипофизарные аденомы встречаются чаще у черных не-испанцев, опухоли влагалища нерва и опухоли эмбриональных клеток чаще встречаются у азиатов и жителей тихоокеанских островов.

В ряде исследований установлено, что у людей с более высоким социально-экономическим статусом риск развития ЗНО ЦНС выше, однако это может быть связано с большей доступностью для них качественной медицинской помощи и, соответственно, лучшей выявляемостью ПО ЦНС [6, 7].

Следует отметить, что в отличие от западных стран, где в последние десятилетия не наблюдалось роста заболеваемости ЗНО ЦНС, в РФ в период с 2009 по 2019 г. наблюдался прирост случаев заболеваний ЗНО головного мозга и других отделов ЦНС, который составил 11.11% для стан-

дартизованных показателей заболеваемости [8]. В РФ в онкологической структуре заболеваемости у лиц в возрасте до 30 лет ЗНО головного мозга и других отделов ЦНС (9.6%) занимает второе место после гемобластозов (31.7%), а в структуре смертности той же возрастной категории – второе место (20.8%) после ЗНО лимфатической и кроветворной ткани (29.5%). В более старших возрастных категориях (старше 40 лет) ЗНО головного мозга и других отделов ЦНС не входит даже в первую десятку локализаций заболеваемости и смертности ни у мужчин, ни у женщин.

Таким образом, при анализе заболеваемости и смертности от ПО ЦНС необходимо учитывать такие факторы, как пол, достигнутый возраст, национальность, социально-экономический статус.

#### *Факторы риска*

К сожалению, к настоящему времени, несмотря на то, что проведен ряд исследований, посвященных изучению влияния различных факторов на развитие ПО ЦНС, лишь по некоторым факторам достигнут консенсус среди эпидемиологов [4, 6, 9–15]. К установленным факторам риска развития опухолей ЦНС относят:

– облучение в высоких дозах, повышающее риск ПО ЦНС (облучение в результате атомной бомбардировки в Японии, терапевтическое и диагностическое облучение);

– состояния, связанные с иммунным ответом на аллергены, снижающие риск ПО ЦНС (например, рядом исследований показано, что наличие атопических состояний, включая астму, экзему и аллергию, приводит к понижению риска развития глиомы, величина которого зависит от гистологического типа опухоли);

– наследственные генетические синдромы (например, нейрофиброматоз, ретинобластома), повышающие риск ПО ЦНС, но отвечающие за небольшую долю случаев ПО ЦНС.

К вероятным факторам риска, требующим дополнительных исследований, относят [4, 6, 9–15]:

– употребление лекарственных препаратов (регулярный прием аспирина или статинов может быть связан с пониженным риском глиомы, механизм неизвестен);

– прием гормональных препаратов (спорные данные);

– антропометрические данные (более высокий рост связан с более высоким риском развития глиомы, в то время как избыточная масса тела повышает риск развития менингиомы);

– диета (употребление витамина Д и А приводит к снижению риска глиомы, а овощей – глиомы и менингиомы);

– нехромосомные структурные пороки развития (обуславливают порядка 7% опухолей мозга у детей и увеличивают риск опухолей мозга у детей почти в 2 раза).

Такие факторы, как рентгеновские снимки зубов, травмы головы, предшествующие ЗНО, проживание вблизи линий электропередач, курение сигарет, употребление алкоголя, профессиональные вредности (за исключением ионизирующего излучения), по мнению эпидемиологов, вероятно, не являются факторами риска развития опухолей ЦНС [6, 9]. К настоящему времени не выявлено убедительных доказательств связи использования мобильных телефонов и повышения риска развития опухолей головного мозга [4, 6, 9, 16]. Однако эксперты убеждены, что необходимы дополнительные эпидемиологические исследования опухолей ЦНС, и в частности, объединенные исследования нескольких институтов, поскольку данные опухоли редки. Также признается, что помимо злокачественных опухолей необходимо изучать доброкачественные, поскольку они составляют значительную долю всех опухолей ЦНС.

#### *Радиогенный риск*

Несмотря на то что ионизирующее излучение является одним из немногих признанных факторов риска и единственным модифицируемым фактором, информация о количественной оценке радиогенного риска развития различных видов опухолей ЦНС крайне скудна. Оценки радиогенного риска доступны преимущественно из исследований когорт, подвергшихся терапевтическому (при лечении опоясывающего лишая, увеличенных миндалин, рака, гемангиомы) или диагностическому облучению (КТ) лиц в детском возрасте; когорты лиц, выживших после взрыва атомных бомб в Японии, и небольшого ряда исследований работников, подвергшихся профессиональному облучению. В табл. 1 представлены исследования, в которых оценивался избыточный относительный риск (ИОР) на единицу дозы.

В Израиле проведено исследование радиационно-индуцированных опухолей головного мозга, включающее группу из 10834 человек, подвергшихся лечению рентгеновским излучением в детском возрасте по поводу опоясывающего лишая в 1950-х годах (медианная поглощенная в мозгу доза облучения составила 1.38 Гр, средняя доза – 1.5 Гр, период наблюдения – 40 лет, средний возраст на момент облучения – 7 лет), и две необлученные группы – такое же число необлученных лиц из популяции, подобранных к облученной группе по возрасту ( $\pm 2$  года), полу, стране рождения и году иммиграции, и группу из

5392 братьев или сестер, подобранных по полу (при возможности), возрасту ( $\pm 5$  лет), стране рождения и году иммиграции [17]. Всего были идентифицированы 81 случай доброкачественных менингиом (67 среди облученных и 14 среди необлученных) и 44 случая ЗНО головного мозга (31 среди облученных и 13 среди необлученных). Установлен статистически значимо повышенный ИОР на единицу поглощенной дозы (Гр) для доброкачественной менингиомы (4.63 95%-ный доверительный интервал (ДИ) 2.43–9.12) и ЗНО головного мозга (1.98 с 95%-ным ДИ 0.73–4.69). ИОР/Гр для всех менингиом (81 доброкачественных и пять злокачественных) составил 5.01 (95%-ный ДИ 2.66–9.80). Величина оценки ИОР/Гр для злокачественных опухолей статистически значимо уменьшалась с увеличением возраста на момент облучения с 3.56 (95%-ный ДИ 0.96–9.91) при возрасте моложе 5 лет до 0.47 (95%-ный ДИ н/д–2,74) при возрасте старше 10 лет. Для доброкачественных менингиом подобной зависимости от возраста не выявлено. ИОР/Гр для обоих видов опухолей оставался повышенным даже спустя 30 и более лет после облучения.

В подобном исследовании 2224 лиц, также прошедших лечение рентгеновским излучением в детском возрасте по поводу опоясывающего лишая в 1949–1959 гг. в г. Нью-Йорке (США), и 1380 лиц, получавших только местное лечение, был установлен ИОР/Гр, равный 1.1 (95%-ный ДИ 0.1–2.8) для ЗНО головного мозга (7 случаев) и 5.6 (95%-ный ДИ 3.0–9.4) для всех внутричерепных опухолей (17 случаев) [18]. Не выявлено модификации риска по полу, расовой принадлежности, возрасту на момент облучения и времени после облучения.

С целью изучения влияния облучения на развитие невромы слухового нерва было проведено исследование 3112 лиц, подвергшихся облучению в детском возрасте (до 16 лет) в период 1939–1962 гг. с целью уменьшения размера миндалин или аденоидов [19]. Средняя доза, поглощенная в мозжечковом угле, составила 4.6 Гр. Спустя 20.4–55 лет после облучения у этих лиц было зарегистрировано 43 доброкачественных невромы слухового нерва, 40 из которых были прооперированы. Относительный риск (ОР) на Гр составил 1.14 (95%-ный ДИ 1.0–1.3). Выявлено статистически незначимое уменьшение величины коэффициента зависимости доза–ответ с увеличением возраста на момент облучения с использованием различных моделей (линейная, степенная, линейно-экспоненциальная). Не выявлено корреляции между дозой облучения и латентным периодом.

В когорте 14361 ребенка, прошедших лечение по поводу рака в США и Канаде в период с 1 ян-

**Таблица 1.** Оценка избыточного относительного риска (ИОР) на единицу дозы (Гр или Зв) после внешнего облучения  
**Table 1.** Estimates of excess relative risk (ERR) per dose unit (Gy or Zv) after external exposure

Исследуемая популяция	Возраст, лет	Смерти/случаи	Средняя доза (диапазон)	ИОР на Гр или Зв (95%-ный ДИ)					
				ПО ЦНС	ДНО	ЗНО	Глиома	Менингиома	Шваннома
Пациенты, прошедшие лечение по поводу									
опоясывающего лишая в Израиле [17]	0–15	125 случаев	1.5 (0.98 – 6.0) Гр	–	4.63 (2.43–9.12)	1.98 (0.73–4.69)	–	5.01 (2.66–9.80)	–
опоясывающего лишая в Нью-Йорке [18]	1–15	17 случаев	1.4 (0.75 – 1.7) Гр	5.6 (3.0–9.4)	–	1.1 (0.1–2.8)	–	–	–
ДНО головы и шеи США [19]	0–15	43 случая	4.6 Гр (0.01–18.2)	–	–	–	–	–	ОР/Гр = 1.14 (1.0–1.3)
Пациенты, выжившие после рака									
США и Канада [20, 21]	0–20	116 случаев	– (<1–>45) Гр	–	–	–	0.33 (0.07–1.71)	1.06 (0.21–8.15)	–
Великобритания [22]	0–14	247 случаев	– (0–>40) Гр	–	–	–	0.079 (0.021–0.229)	5.1 (0.7–107.7)	–
Лица, прошедшие одно или несколько обследований методом КТ									
Нидерланды [23]	0–17	84 случая	0.039 (<0.005–>0.120) Гр	8.6 (2.0–22.2)	7.8 (0.7–25.8)	10.2 (0.1–43.0)	11.7 (0.4–51.3)	0.6 (–0.35–64.4)	–
Соединенное Королевство [24, 25]	0–20	135 случаев	– (<0.005–>0.35) Гр	–	–	0.023 (0.010–0.049)	0.019 (0.003–0.070)	0.033 (0.002–0.439)	–
Выжившие после атомной бомбардировки									
Япония [26]	0–81	285 случаев	0.13 (0 – 3.8) Гр	1.40 (0.61–2.57)	–	–	1.67 (0.12 – 5.26)	1.82 (0.51–4.30)	–
Технологи-рентгенологи									
США [27]	взрос-лые	193 смерти	0.0125 (0–0.290) Гр	–	–	0.01 (<–0.03–0.15)	–	–	–
Работники атомной промышленности									
Соединенное Королевство [29]	взрос-лые	278 смертей	0.025 (0–>0.100) Зв	–1.362 (–1.85–0.55)	–	–	–	–	–
		337 случаев		–0.882 (–1.56–0.69)	–	–	–	–	–

Таблица 1. Окончание

Изучаемая популяция	Возраст, лет	Смерти/случаи	Средняя доза (диапазон)	ИОР на Гр или Зв (95%-ный ДИ)					
				ПО ЦНС	ДНО	ЗНО	Глиома	Менингиома	Шваннома
Франция [30, 31]	взрослые	102 смерти [30]	0.012 (0->0.200) Зв	-1.23 (90% ДИ <0-3.56)	-	-	-	-	-
	взрослые	131 смерть [31]	0.016 (0-0.606) Зв	-1.18 (90% ДИ <0-3.06)	-	-	-	-	-
Канада [32]	взрослые	22 смерти	0.022 (0-0.679) Зв	-	-	-1.45 (<-1.47-5.83)	-	-	-
США [33]	взрослые	23 смерти	0.026 (0->0.300) Зв	-	-	-22.503 (<-22.51-27.1)	-	-	-
15 стран [34]	взрослые	235 смертей	0.019 (0-1.500) Зв	<0 (-)	-	-	-	-	-
Франция, Соединенное Королевство и США [35]	взрослые	594 смерти	0.020 Гр (мужчины) 0.004 Гр (женщины)	-	-	-0.92 (90% ДИ <-0.92-1.14)	-	-	-
	взрослые	66 смертей [36]	0.354 Гр (толстая кишка)	-	-	<0 (<-0.1-0.32)	-	-	-
Россия [36-38]	взрослые	48 случаев [37]	0.51 (0-6.8) Гр	-	-	0.15 (-)	-	-	-
	взрослые	53 случая [38]	0.13 (0.001-0.3) Гр	-	-	0.3 (-2.43-8.62)	-	-	-
Шахтеры урановых рудников									
Франция [39]	взрослые	28 смертей	0.055 (0.0002-0.470) Гр	0.49 (<-1-4.62)	-	-	-	-	-
Германия [40]	взрослые	14 смертей	0.026 (0.011-0.667) Зв	-	-	-1.50 (-5.95-2.95)	-	-	-

варя 1970 г. по 31 декабря 1986 г. и проживших не менее 5 лет после установления диагноза рака, изучено развитие последующих опухолей ЦНС [20, 21]. Период наблюдения продолжался до 31 декабря 2001 г. Каждому пациенту были подобраны по возрасту, полу и времени, прошедшего после первичного рака, четыре человека из контрольной группы, получены дозиметрические данные и данные о химиотерапии. Последующие раки были диагностированы у 116 человек. Глиомы (40 случаев) развивались через 9 лет (медиа-на), а менингиомы (66 случаев) через 17 лет после первичного рака. Радиационное воздействие приводило к повышенному риску глиомы (ОР = 6.78, 95%-ный ДИ 1.54–29.7) и менингиомы (ОР = 9.94, 95%-ный ДИ 2.17–45.6). Функция доза–ответ описывалась с помощью линейной зависимости; ИОР/Гр составил 0.33 (95%-ный ДИ 0.07–1.71) при анализе глиомы и 1.06 (95%-ный ДИ 0.21–8.15) при анализе менингиомы. Несмотря на то что для глиомы не было выявлено гетерогенности оценок ИОР/Гр в зависимости от возраста на момент облучения, следует отметить, что оценка ИОР/Гр (0.64 95%-ный ДИ 0.12–5.66) была наиболее высокая и статистически значимая при облучении в возрасте моложе 5 лет, при облучении в более старшем возрасте оценки ИОР/Гр были статистически незначимы, что может свидетельствовать о большей восприимчивости развивающегося мозга к облучению. Для менингиомы не выявлено зависимости риска от возраста на момент облучения; оценки ИОР/Гр были статистически значимо выше нуля во всех возрастных группах. После введения поправки на дозу облучения не выявлено связи риска ни с первичным типом рака, ни с химиотерапией. Не выявлено различий в зависимости от пола и времени, прошедшего после первого облучения.

В национальном исследовании когорты 17980 лиц, проживших не менее 5 лет после первичного рака, установленного в детском возрасте в Великобритании, было зарегистрировано 247 последующих ПО ЦНС (137 менингиомы, 73 глиомы, 37 других опухолей ЦНС) [22]. К 243 случаям были подобраны (1 : 1) контроли из этой же когорты (с учетом возраста, пола, периода между первой и второй первичной опухолью, семейного анамнеза по ретинобластоме) и проведен анализ случай–контроль. Установлено, что риск менингиомы после облучения линейно возрастал с увеличением дозы облучения (ИОР/Гр = 5.1 95%-ный ДИ 0.7–107.7), при этом не установлено значимой связи с генетической предрасположенностью или химиотерапией. Риск глиомы также линейно возрастал с увеличением дозы (ИОР/Гр = 0.079 95%-ный ДИ 0.021–0.229); при этом выявлена модификация риска с возрастом на момент

установления диагноза рака ( $p < 0.033$ ) и генетической предрасположенностью ( $p < 0.016$ ). Было также установлено повышение риска менингиомы при интратекальном введении метотрексата.

В исследовании [23] оценен риск опухолей головного мозга после диагностического облучения в низких дозах среди лиц, прошедших КТ в детском возрасте в Нидерландах. В изучаемую ретроспективную национальную когорту вошли 168394 ребенка, прошедших одно или несколько обследований методом КТ в период 1979–2012 гг. в возрасте моложе 18 лет, за исключением лиц с синдромом туберозного склероза, требующего рутинных обследований методом КТ. Период наблюдения начинался через 5 лет после первого КТ и завершался на дату регистрации опухоли, дату смерти или 31 декабря 2014 г. Средняя суммарная доза, поглощенная в головном мозге, составила 38.5 мГр. Установлен статистически значимо повышенный ИОР/100 мГр для всех ЗНО и ДНО мозга (0.86 95%-ный ДИ 0.20–2.22) на основе 84 случаев. Для ЗНО мозга (37 случаев) ИОР/100 мГр составил 1.02 (95%-ный ДИ 0.01–4.30) и ДНО мозга (47 случаев) – 0.78 (95%-ный ДИ 0.07–2.58). Для глиомы (34 случая) ИОР/100 мГр составил 1.17 (95%-ный ДИ 0.04–5.13), для менингиомы (9 случаев) – 0.06 (95%-ный ДИ 0.035–6.44). Не выявлено зависимости радиогенного риска заболеваемости опухолей мозга от пола, числа исследований методом КТ, числа лет после облучения или возраста на момент облучения. По сравнению с общей популяцией заболеваемость опухолями мозга была выше в когорте детей, прошедших обследование методом КТ, однако авторы отмечают, что к данным результатам следует относиться с осторожностью.

Ретроспективное когортное исследование, целью которого являлось изучение зависимости доза–ответ между дозой, полученной детьми или молодыми людьми (до 22 лет) в результате прохождения КТ в 1985–2002 гг., и риском развития опухоли головного мозга, проведено в Соединенном Королевстве на основе сопоставления записей между радиологическими базами данных госпиталей и данными регистров рака [24]. Всего было включено в исследование около 180 тыс. человек. ИОР/Гр составил 0.023 (95%-ный ДИ 0.010–0.049). Не выявлено отклонения зависимости от линейности. Не выявлено зависимости ИОР/Гр от пола, числа лет после облучения, числа исследований методом КТ, но оценка риска возрастала с увеличением возраста на момент облучения. Впоследствии [25] на 40% когорты была собрана информация о: 1) предрасполагающих к развитию рака мозга состояниях (синдром Ли–Фраумени, туберозный склероз, нейрофиброматоз типа 1 и типа 2, невоидный базальноклеточ-

ный синдром, цереброретинальный ангиоматоз и синдром Туркота); 2) назначении КТ из-за подозрения о доклиническом раке; 3) раке, предшествовавшем первому КТ. Для сбора дополнительной информации было использовано три источника: письменные комментарии радиологов, зафиксированные в базе данных радиологической информационной системы (РИС); сертификат о смерти (СС) для умерших; отчет о патологии для каждого случая (ОП). Установлено, что predisposing состояния из 135 случаев опухоли мозга были в 13 случаях согласно РИС и СС, и еще в 16 случаях согласно только ОП. Ранее диагностированный рак (до опухоли головного мозга) был в семи случаях согласно РИС и СС, и еще в трех случаях согласно только ОП. Кроме этого, выявлены доказательства возможной предшествующей опухоли мозга более чем за 5 лет до опухоли мозга в 16 случаях согласно комментариям радиологов. В исследовании была использована доза, поглощенная в головном мозге, с периодом лагирования 5 лет, период наблюдения начинался 5 лет спустя после первого КТ. Не было установлено, что включение пациентов с predisposing состояниями смещало оценки зависимости между риском опухоли мозга и дозой, полученной в результате КТ. Несмотря на то что доля лиц с predisposing состояниями была выше среди случаев, эти пациенты не проходили чаще КТ и не подвергались облучению в более высоких дозах. Однако исключение лиц с предшествующими диагнозами рака уменьшало оценку ИОР/Гр на 30%. На основе анализа данных РИС ИОР/Гр составил 0.019 (95%-ный ДИ 0.008–0.043) при исключении лиц с predisposing состояниями и 0.016 (95%-ный ДИ 0.006–0.037) при исключении лиц с предшествующими диагнозами рака.

В когорте продолжительности жизни среди лиц, выживших после атомных бомбардировок в Японии, оценен радиогенный риск первичных глиом (67 случаев), менингиом (107 случаев), шваном (49 случаев) и других или неуточненных опухолей ЦНС (64 случая), зарегистрированных в период 1958–2009 гг. среди 105444 лиц, для которых имелись оценки дозы облучения головного мозга [26]. ИОР/Гр составил 1.67 (95%-ный ДИ 0.12–5.26) для глиом, 1.82 (95%-ный ДИ 0.51–4.30) для менингиом, 1.45 (95%-ный ДИ 0.01–4.97) для шваном и 1.40 (95%-ный ДИ 0.61–2.57) для всех опухолей ЦНС в целом. Ни для одного из анализируемых типов опухоли не выявлено отклонения зависимости доза–ответ от линейности. Оценки ИОР/Гр были выше у мужчин по сравнению с женщинами, но статистически значимое различие по полу было установлено только для менингиомы. Установлено, что оценка

ИОР/Гр для шваномы значительно снижалась с увеличением достигнутого возраста.

В исследованиях работников [27–41], подвергавшихся в ходе своей профессиональной деятельности облучению в средних или низких дозах, не получены доказательства связи облучения и развития опухолей ЦНС (табл. 1). Однако следует отметить, что ни в одном из этих исследований, за исключением [27], радиогенный риск опухолей ЦНС не являлся непосредственным предметом изучения.

Проведен крупный мета-анализ [28], целью которого было изучение риска смертности от солидных раков, включая ЗНО ЦНС, среди работников атомной промышленности (преимущественно работы, связанные с добычей, дроблением, очисткой и обогащением урана), подвергшихся облучению в низких дозах, с использованием стандартизованного отношения смертности (СОС). С помощью систематического поиска литературы, осуществленного по базам данным PubMed и Embase, было отобрано 27 исследований, проведенных во Франции, США, Германии, России, Канаде, Соединенном Королевстве, Корее, Австралии, Бельгии, и опубликовавшие результаты в период 01.01.2000–31.12.2016. Выявлена небольшая гетерогенность между исследованиями риска смертности от опухолей ЦНС ( $P = 0.31$ ,  $I^2 = 11.9\%$ ). Мета-оценка СОС для смертности от опухолей ЦНС составила 1.05 (95%-ный ДИ 0.96–1.14) для модели с фиксированными эффектами и 1.09 (95%-ный ДИ 0.98–1.21) для модели со случайными эффектами. После исключения исследования работников Соединенного Королевства [29] мета-оценка СОС для опухолей ЦНС стала равна 1.16 (95%-ный ДИ 1.02–1.31) с использованием модели фиксированных эффектов ( $P = 0.02$ ,  $I^2 = 0.00\%$ ). Авторы предполагают, что облучение в низких дозах может увеличивать риск смертности от ЗНО ЦНС, но требуются дополнительные исследования.

В когорте технологов-рентгенологов США [27], состоящей из 83655 женщин и 26642 мужчин, аттестованных в течение как минимум 2 лет по состоянию на 1982 г., изучалась смертность (193 смерти) от внутричерепных ЗНО головного мозга и других отделов ЦНС, опухоли спинного мозга были исключены. Средняя суммарная поглощенная в головном мозге доза составила 0.012 Гр (диапазон 0–0.290 Гр). Не выявлено зависимости смертности от внутричерепных ЗНО от суммарной дозы на головной мозг (период лагирования 5 лет); ИОР на 100 мГр составил 0.1 (95%-ный ДИ  $< -0.3$ –1.5). Также не выявлено модификации эффекта по полу и году рождения.

В третьем анализе когорты 174541 работника атомной промышленности Соединенного Коро-

левства не установлено статистически значимого тренда в зависимости от дозы внешнего облучения (период лагирования 10 лет) ни для смертности (ИОР/Гр =  $-1.362$  (95%-ный ДИ  $-1.85-0.55$ )), ни для заболеваемости (ИОР/Гр =  $-0.882$  (95%-ный ДИ  $-1.56-0.69$ )) опухолями головного мозга (ЗНО и ДНО) [29]. Также не выявлено зависимости риска смертности от опухолей головного мозга от дозы облучения ни в анализе 36769 постоянных работников, нанятых в Комиссариат по атомной энергии Франции или ARREVA (COGEMA) в 1950–1994 г. и наблюдавшихся до 2004 г. (ИОР/Гр =  $-1.23$  90%-ного ДИ  $< 0-3.56$ ) [30], ни в расширенной когорте (59021 человека), включавшей дополнительно работников крупнейшей государственной энергогенерирующей компании Франции EDF (ИОР/Гр =  $-1.18$  90%-ного ДИ  $< 0-3.06$ ) [31].

При анализе ЗНО головного мозга в когорте 45316 работников атомной промышленности Канады не выявлено статистически значимого тренда смертности от опухолей головного мозга в зависимости от дозы внешнего облучения (период лагирования 10 лет); ИОР/Гр составил  $-1.45$  (95%-ный ДИ  $< -1.47-5.83$ ) [32]. Не выявлено подобной зависимости и в анализе 53698 работников, занятых на 15 предприятиях по производству атомной энергии в США; ИОР/Гр составил  $-2.503$  (95%-ный ДИ  $< -22.51-27.1$ ) [33].

Исследование, объединившее данные на 407391 работника атомной промышленности 15 стран (Австралия, Бельгия, Канада, Финляндия, Франция, Венгрия, Япония, Корея, Литва, Словакия, Испания, Швеция, Швейцария, Соединенное Королевство, США), не выявило статистически значимого тренда смертности от опухолей головного мозга и других отделов ЦНС. ИОР/Гр составил  $< 0$  (90%-ный ДИ не определен), ОР при 100 мЗв составил 0.82 (90%-ный ДИ 0.53–1.17) [34]. Аналогично, в результате проведенного исследования работников трех стран – Франции, Соединенного Королевства и США (INWORKS) – также не выявлено статистически значимого риска; ИОР на 1 Гр (период лагирования 10 лет) для ЗНО головного мозга составил  $-0.92$  (90%-ный ДИ  $< -0.92-1.14$ ) [35].

В когорте работников ПО “Маяк”, нанятых в период 1948–1982 гг. и наблюдавшихся до конца 2008 г., оценен радиогенный риск смертности [36] и заболеваемости [37] от солидных раков, в том числе от ЗНО головного мозга. В исследовании заболеваемости солидными ЗНО были включены только работники основных заводов (22366 человек), а в анализ смертности дополнительно были включены работники вспомогательных производств (25757 человек). Особенностью исследований работников ПО “Маяк” является

тот факт, что помимо внешнего облучения часть работников также подвергались внутреннему облучению за счет инкорпорированного плутония. За весь период наблюдения было зарегистрировано 66 смертей и 48 случаев опухолей головного мозга. ИОР/Гр для смертности от опухолей головного мозга составил  $< 0$  (95%-ный ДИ  $< 0.1-0.32$ ) с использованием дозы внешнего  $\gamma$ -излучения, поглощенной в головном мозге (без поправки на дозу внутреннего  $\alpha$ -излучения от инкорпорированного плутония), и  $< 0$  (95%-ный ДИ  $< 0.1-0.26$ ) с использованием  $\text{Pu}10$  (без поправки на дозу внутреннего  $\alpha$ -излучения от инкорпорированного плутония). ИОР/Гр для заболеваемости от опухолей головного мозга составил 0.15 (95%-ный ДИ не определен) с использованием дозы внешнего  $\gamma$ -излучения, поглощенной в головном мозге.

При анализе заболеваемости солидными опухолями в когорте 55718 российских ликвидаторов (мужчины) последствий аварии на Чернобыльской АЭС, работавших в 30-километровой зоне в период 1986–1987 гг. и наблюдавшихся в период 1991–2001 гг., не выявлено статистически значимого избыточного риска для опухолей глаза, головного мозга и других частей ЦНС [38].

В рамках исследования радиогенного риска смертности среди шахтеров урановых рудников Франции [39] и Германии [40], а также работников завода по переработке урана Канады [41] был проведен анализ риска смертности от опухолей мозга в зависимости от дозы внешнего  $\gamma$ -излучения, уровня радона и долгоживущих радионуклидов. Не установлено статистически значимого ИОР/Гр ни для одного из видов облучения.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что:

- ионизирующее излучение является одним из немногих признанных факторов риска ПО ЦНС и единственным модифицируемым фактором;
- повышенный риск ПО ЦНС обусловлен преимущественно облучением в высоких дозах (терапевтическое, диагностическое, взрыв) и облучением в детском возрасте;
- информация по количественной оценке радиогенного риска развития различных видов опухолей ЦНС крайне скудна, особенно после облучения в низких дозах, а также у взрослых;
- необходимы дополнительные исследования по количественной оценке радиогенного риска развития различных видов ПО ЦНС.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Клинические рекомендации “Первичные опухоли центральной нервной системы”, утвержденные Общероссийским национальным союзом “Ассоциация онкологов России” и одобренные Мини-

- стерством здравоохранения Российской Федерации. М., 2020. 76 с. Доступно по: [https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2020/09/pervichnye\\_opuholi\\_cns.pdf](https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2020/09/pervichnye_opuholi_cns.pdf). Ссылка активна на 20.02.2021. [Klinicheskie rekomendacii "Pervichnye opuholi central'noj nervnoj sistemy", utverzhdenные Obshcherossijskim nacional'nym soyuzom "Associa-ciya onkologov Rossii" i odobrenные Ministerstvom Zdravoohraneniya Rossijskoj Federacii. Moskva, 2020. 76 s. Dostupno po: [https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2020/09/pervichnye\\_opuholi\\_cns.pdf](https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2020/09/pervichnye_opuholi_cns.pdf). Ssylka aktivna na 20.02.2021 (In Russ.)]
2. Международная классификация болезней 10-го пересмотра (МКБ-10). Доступно по: <https://mkb-10.com>. Ссылка активна на 01.02.2021. [Mezhdunarodnaya klassifikaciya boleznej 10-go peresmotra (МКБ-10). Dostupno po: <https://mkb-10.com>. Ssylka aktivna na 01.02.2021. (In Russ.)]
  3. Pouchieu C., Gruber A., Berteaud E. et al. Increasing incidence of central nervous system (CNS) tumors (2000–2012): findings from a population based registry in Gironde (France) // *BioMed. Central Cancer*. 2018; 18: 653. <https://doi.org/10.1186/s12885-018-4545-9>
  4. Ohgaki H. *Epidemiology of Brain Tumors // Methods of Molecular Biology, Cancer Epidemiology / Ed. M. Verma. Totowa (NJ): Humana Press, a part of Springer Science + Business Media. 2009. V. 472. P. 323–342.* <https://doi.org/10.1007/978-1-60327-492-0>
  5. Ostrom Q.T., Cioffi G., Waite K. et al. CBTRUS Statistical report: primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2014–2018 // *Neuro-Oncology*. 2021. V. 23. № S3. P. iii1–iii105. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noab200>
  6. Ostrom Q.T., Fahmideh M.A., Cote D.J. et al. Risk factors for childhood and adult primary brain tumors // *Neuro-Oncology*. 2019. V. 21. № 11. P. 1357–1375. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noz123>
  7. Khodamoradi F., Ghoncheh M., Pakzad R. et al. The incidence and mortality of brain and central nervous system cancer and their relationship with human development index in the world // *World Cancer Res. J*. 2017. V. 4. № 4. P. e985. [https://doi.org/10.32113/wcrj\\_201712\\_985](https://doi.org/10.32113/wcrj_201712_985)
  8. Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ "НМИЦ радиологии" Минздрава России, 2020. 252 с. ISBN 978-5-85502-260-5. [Zlokachestvenные novoobrazovaniya v Rossii v 2019 godu (zabolevaemost' i smertnost'). Moskva: MNIOI im. P.A. Gercena – filial FGBU "NMIC radiologii" Minzdrava Rossii, 2020. 252 s. ISBN 978-5-85502-260-5 (In Russ.)]
  9. Bondy M.L., Scheurer M.E., Malmer B. et al. Brain tumor epidemiology: consensus from the brain tumor epidemiology consortium // *Cancer*. 2008. V. 113. 7 suppl. P. 1953–1968. <https://doi.org/10.1002/cncr.23741>
  10. Schlehofer B., Hettinger I., Ryan P. et al. Occupational risk factors for low grade and high grade glioma: results from an international case control study of adult brain tumours // *Int. J. Cancer*. 2005. V. 113. P. 116–125. <https://doi.org/10.1002/ijc.20504>
  11. Principles & practice of neuro-oncology: a multidisciplinary approach / Ed. M.P. Mehta. New York: Demos Medical, 2011. Available at: [https://books.google.ru/books?hl=ru&lr=&id=xVlr\\_RoTYE-cC&oi=fnd&pg=PR4&ots=QBZ691VWlt&sig=v\\_Cu bsZZI3wUqu17EmAKu9vKSG&redir\\_esc=y#v=one page&q&f=false](https://books.google.ru/books?hl=ru&lr=&id=xVlr_RoTYE-cC&oi=fnd&pg=PR4&ots=QBZ691VWlt&sig=v_Cu bsZZI3wUqu17EmAKu9vKSG&redir_esc=y#v=one page&q&f=false). Accessed March 12, 2021.
  12. Alexiou G.A., Kallinteri A., Nita E. et al. Serum IgE levels in patients with intracranial tumors // *Neuroimmunol. Neuroinflam.* 2015. V. 2. № 1. P. 15–17. <https://doi.org/10.4103/2347-8659.149398>
  13. Wiedmann M.K.H., Brunborg C., Di Ieva A. et al. Overweight, obesity and height as risk factors for meningioma, glioma, pituitary adenoma and nerve sheath tumor: a large population-based prospective cohort study // *Acta Oncologica*. 2017. V. 56. № 10. P. 1302–1309. <https://doi.org/10.1080/0284186X.2017.1330554>
  14. Sergentanis T.N., Tsiygoulis G., Perlepe C. et al. Obesity and risk for brain/CNS tumors, gliomas and meningiomas: a meta-analysis // *PLoS ONE*. 2015. V. 10. № 9. P. e0136974. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136974>
  15. Zhang D., Chen J., Wang J. et al. Body mass index and risk of brain tumors: a systematic review and dose-response meta-analysis // *Eur. J. Clin. Nutr.* 2016. V. 70. P. 757–765. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2016.4>
  16. Cardis E., Armstrong B.K., Bowman J.D. et al. Risk of brain tumours in relation to estimated RF dose from mobile phones: results from five Interphone countries // *Occup. Environ. Med.* 2011. V. 68. № 9. P. 631–640. <https://doi.org/10.1136/oemed-2011-100155>
  17. Sadezki S., Chetrit A., Freedman L. et al. Long-Term Follow-up for Brain Tumor Development after Childhood Exposure to Ionizing Radiation for Tinea Capitis // *Radiat. Res.* 2005. V. 163. P. 424–432. <https://doi.org/10.1667/rr3329>
  18. Shore R.E., Moseson M., Harley N. et al. Tumors and other diseases following childhood X-ray treatment for ringworm of the scalp (tinea capitis) // *Health Phys.* 2003. V. 85. № 4. P. 404–408. <https://doi.org/10.1097/00004032-200310000-00003>
  19. Schneider A.B., Ron E., Lubin J. et al. Acoustic neuromas following childhood radiation treatment for benign conditions of the head and neck // *Neuro-Oncology*. 2008. V. 10. P. 73–78. <https://doi.org/10.1215/15228517-2007-047>
  20. Neglia J.P., Robison L.L., Stovall M. et al. New primary neoplasms of the central nervous system in survivors of childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study // *J. National Cancer Institute*. 2006. V. 98. № 21. P. 1528–1537. <https://doi.org/10.1093/jnci/djj411>
  21. Inskip P.D., Sigurdson A.J., Veiga L. et al. Radiation-Related New Primary Solid Cancers in the Childhood

- Cancer Survivor Study: Comparative Radiation Dose Response and Modification of Treatment Effects // *Int. J. Radiat. Oncology-Biology-Physics*. 2016. V. 94. № 4. P. 800–807.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2015.11.046>
22. *Taylor A.J., Little M.P., Winter D.L. et al.* Population-based risks of CNS tumors in survivors of childhood cancer: the British Childhood Cancer Survivor Study // *J. Clin. Oncol.* 2010. V. 28. № 36. P. 5287–5293.  
<https://doi.org/10.1200/JCO.2009.27.0090>
23. *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. National Cancer Institute*. 2019. V. 111. № 3. P. 256–263.  
<https://doi.org/10.1093/jnci/djy104>
24. *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)
25. *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. P. 388–394.  
<https://doi.org/10.1038/bjc.2015.415>
26. *Brenner A.V., Hiromi S., Preston D.L. et al.* Radiation risk of central nervous system tumors in the Life Span Study of atomic bomb survivors, 1958–2009 // *Eur. J. Epidemiol.* 2020. V. 35. P. 591–600.  
<https://doi.org/10.1007/s10654-019-00599-y>
27. *Kitahara C.M., Linet M.S., Balter S. et al.* Occupational radiation exposure and deaths from malignant intracranial neoplasms of the brain and CNS in U.S. Radiologic Technologists, 1983–2012 // *Am. J. Roentgenol.* 2017. V. 208. № 6. P. 1278–1284.  
<https://doi.org/10.2214/AJR.16.16964>
28. *Qu S., Gao J., Tang B. et al.* Low-dose ionizing radiation increases the mortality risk of solid cancers in nuclear industry workers: a meta-analysis // *Molec. Clin. Oncol.* 2018. V. 8. P. 703–711.  
<https://doi.org/10.3892/mco.2018.1590>
29. *Muirhead C.R., O'Hagan J.A., Haylock R.G. et al.* Mortality and cancer incidence following occupational radiation exposure: third analysis of the National Registry for Radiation Workers // *Br. J. Cancer*. 2009. V. 100. P. 206–212.  
<https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6604825>
30. *Metz-Flamant C., Samson E., Caer-Lorho S. et al.* Solid Cancer Mortality Associated with Chronic External Radiation Exposure at the French Atomic Energy Commission and Nuclear Fuel Company // *Radiat. Res.* 2011. V. 176. P. 115–127.  
<https://doi.org/10.1667/RR2528.1>
31. *Metz-Flamant C., Laurent O., Samson E. et al.* Mortality associated with chronic external radiation exposure in the French combined cohort of nuclear workers // *Occup. Environ. Med.* 2013. V. 70. P. 630–638.  
<https://doi.org/10.1136/oemed-2012-101149>
32. *Zablotska L., Lane R., Thompson P.* A reanalysis of cancer mortality in Canadian nuclear workers (1956–1994) based on revised exposure and cohort data // *Br. J. Cancer*. 2014. V. 110. P. 214–223.  
<https://doi.org/10.1038/bjc.2013.592>
33. *Howe G.R., Zablotska L.B., Fix J.J. et al.* Analysis of the mortality experience amongst U.S. nuclear power industry workers after chronic low-dose exposure to ionizing radiation // *Radiat. Res.* 2004. V. 162. P. 517–526.  
<https://doi.org/10.1667/rr3258>
34. *Cardis E., Vrijheid M., Blettner M. et al.* The 15-country collaborative study of cancer risk among radiation workers in the nuclear industry: estimates of radiation-related cancer risks // *Radiat. Res.* 2007. V. 167. P. 396–416.  
<https://doi.org/10.1667/RR0553.1>
35. *Richardson D.B., Cardis E., Daniels R.D. et al.* Site-specific solid cancer mortality after exposure to ionizing radiation: a cohort study of workers (INWORKS) // *Epidemiology*. 2018. V. 29. № 1. P. 31–40.  
<https://doi.org/10.1097/EDE.0000000000000761>
36. *Sokolnikov M., Preston D., Gilbert E. et al.* Radiation effects on mortality from solid cancers other than lung, liver, and bone cancer in the Mayak worker cohort: 1948–2008 // *PLoS ONE*. 2015. V. 10. P. e0117784.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117784>
37. *Hunter N., Kuznetsova I.S., Labutina E.V. et al.* Solid cancer incidence other than lung, liver and bone in Mayak workers: 1948–2004 // *Br. J. Cancer*. 2013. V. 109. P. 1989–1996.  
<https://doi.org/10.1038/bjc.2013.543>
38. *Ivanov V.K., Gorski A.I., Tsyb A.F. et al.* Solid cancer incidence among the Chernobyl emergency workers residing in Russia: estimation of radiation risks // *Radiat. Environ. Biophys.* 2004. V. 43. P. 35–42.  
<https://doi.org/10.1007/s00411-003-0223-6>
39. *Rage E., Caer-Lorho S., Drubay D. et al.* Mortality analyses in the updated French cohort of uranium miners (1946–2007) // *Int. Arch. Occup. Environ. Health*. 2015. V. 88. P. 717–730.  
<https://doi.org/10.1007/s00420-014-0998-6>
40. *Kreuzer M., Dufey F., Laurier D. et al.* Mortality from internal and external radiation exposure in a cohort of male German uranium millers, 1946–2008 // *Int. Arch. Occup. Environ. Health*. 2015. V. 88. P. 431–441.  
<https://doi.org/10.1007/s00420-014-0973-2>
41. *Zablotska L.B., Lane R.S., Frost S.E.* Mortality (1950–1999) and cancer incidence (1969–1999) of workers in the Port Hope cohort study exposed to a unique combination of radium, uranium and  $\gamma$ -ray doses // *Br. Med. J. Open*. 2013. V. 3. pii: e002159.  
<https://doi.org/10.1136/bmjopen-2012-002159>

## The Effect of Ionizing Radiation on the Development of Tumors of the Central Nervous System

M. B. Moseeva<sup>a,#</sup>

<sup>a</sup> *South Ural Institute of Biophysics of FMBA of Russia, Ozyersk, Russia*

<sup>#</sup> *E-mail: clinic@subi.su*

Primary tumors (PT) of the central nervous system (CNS) are relatively rare diseases as compared with other tumors in adults, while they take the second place in the cancer mortality among persons younger 19 years old. In the developed countries there was an increase in CNS PT incidence during 1970s to early 1990s, which was presumably due to making computerized tomography scanning and magnetic resonance imaging accessible, achievements in non-malignant CNS tumor registration and improvements in clinical practice. To date despite the fact that the effects of different factors on the CNS PT development were analyzed in a number of studies, epidemiologists have only come to an agreement for several of them. Findings from the studies indicate that ionizing radiation is one of a few agreed risk factors for CNS PT and the only modifiable factor. Information on quantitative estimates of radiogenic risk for different types of CNS PT is extremely scarce. This review shows that increased risk of CNS PT is primarily associated with exposure to high radiation doses (therapeutic, diagnostic, and bombing) as well as childhood radiation exposure. At present additional studies on quantitative estimates of radiogenic risk for CNS PT after exposure to low radiation doses and among adults are needed.

**Keywords:** central nervous system, primary tumors, radiogenic risk, mortality, incidence

**ВЛИЯНИЕ ОКСИДА ДЕЙТЕРИЯ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ *recA* И *colD*,  
ИНДУЦИРОВАННУЮ В КЛЕТКАХ *Esherichia coli*  
В РЕЗУЛЬТАТЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ УФ-ИЗЛУЧЕНИЯ**© 2022 г. С. К. Абилов<sup>1,2,\*</sup>, С. В. Смирнова<sup>1</sup>, Т. Н. Шапиро<sup>1</sup><sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

\*E-mail: abilev@vigg.ru

Поступила в редакцию 06.12.2021 г.

После доработки 13.03.2022 г.

Принята к публикации 27.04.2022 г.

Впервые показано, что дейтерирование бактерий *Esherichia coli* оксидом дейтерия ( $D_2O$ ) в концентрациях от 5 до 10% в среде приводит к усилению SOS-ответа у биосенсоров *E. coli* MG1655 (pColD::lux) и *E. coli* MG1655 (pRecA::lux), индуцированного УФ в дозе 12 Дж/м<sup>2</sup>. Используемые в работе биосенсоры содержат гибридные плазмиды, несущие *luxCDABE* оперон фотобактерии *Photothabdus luminescens*, поставленный под контроль промоторов генов *cda* (*colD*) и *recA*. Индукция генотоксичными факторами у биосенсоров указывает на активацию экспрессии соответствующих генов SOS-системы *E. coli*. Одновременное изучение интенсивности люминесценции и выживаемости бактерий биосенсора *E. coli* MG1655 (pCol-lux) показало, что УФ-облучение в дозе 12 Дж/м<sup>2</sup> усиливает интенсивность люминесценции с 2111.1 в среде без  $D_2O$  до 5030.3 усл. ед. на 10<sup>7</sup> жизнеспособных клеток в среде с  $D_2O$ . Интенсивность люминесценции биосенсора была в 2.5 раза выше в среде с дейтерием, чем без него.

**Ключевые слова:** биосенсоры, *Esherichia coli*, оксид дейтерия, УФ-облучение, SOS-ответ, люминесценция

DOI: 10.31857/S0869803122040038

Дейтерий (D), тяжелый изотоп водорода – против (H), был открыт в 1932 г. [1]. Наиболее распространенным его соединением является оксид дейтерия ( $D_2O$ ), который в 1933 г. был получен в концентрированном виде и получил название “тяжелая вода”.

Изучение влияния  $D_2O$  на самые разные живые организмы началось сразу после получения этого соединения в 1933 г. в значительных количествах. Исследования, проведенные с 30-х по 50-е годы XX века, показали, что  $D_2O$  в больших концентрациях замедляет у живых организмов метаболизм и скорости ферментативных реакций, влияет на синтез белков и нуклеиновых кислот, подавляет митоз, нарушает процесс клеточного деления, что приводит к морфологическим изменениям [2–4].

Несмотря на многочисленные работы по изучению токсического действия  $D_2O$  на уровне целого организма и влияния его на физиологические и биохимические процессы в клетке, исследова-

ния его влияния на генетические процессы немногочисленны. Ранее было показано, что предварительное дейтерирование лейкемических клеток мыши линии L5178Y в течение 3 ч в среде с содержанием 45%  $D_2O$  усиливает мутагенное действие  $\gamma$ - и  $\beta$ -излучений мощностью доз от 0.025 до 0.4 Гр/ч (при обработке клеток тритиевой водой), регистрируемое по индукции мутаций устойчивости к 6-тиогуанину [5]. Нами впервые было показано, что предварительное культивирование клеток *E. coli* в среде с концентрацией  $D_2O$  не более 10% усиливает SOS-ответ, индуцированный 4-нитрохиолин-1-оксидом, N-нитрозо-N-метилмочевинной (НММ) и митомицином С [6], а также экспрессию гена *alkA*, индуцированную алкилирующими соединениями метилметансульфонатом и N-нитрозо-N-метилмочевинной [7]. В экспериментах с пероксидом водорода  $D_2O$  снижал уровень экспрессии гена каталазы, но усиливал экспрессию гена *recA* [8]. Это является свидетельством того, что в случае индукции генотоксичными агентами повреждений ДНК, дейтерирование

усиливает экспрессию генов, относящихся к системам SOS-репарации ДНК и адаптивного ответа.

Целью настоящей работы является изучение влияния  $D_2O$  на экспрессию бактериальных генов *recA* и *colD*, индуцированную УФ-облучением с помощью биосенсоров *E. coli*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

**Бактериальные культуры.** В работе использованы два lux-биосенсора: *E. coli* MG1655 (pColD::lux) и *E. coli* MG1655 (pRecA::lux) (далее обозначены как pColD-lux и pRecA-lux соответственно), которые содержат гибридные плазмиды, несущие *luxCDABE* оперон фотобактерии *Photobacterium luminescens*, поставленный под контроль промоторов генов *cda* (*colD*) и *recA*. Биoluminesценция данных штаммов используется в качестве репортерной функции, ее индукция генотоксичными факторами у pColD-lux и pRecA-lux указывает на активацию экспрессии соответствующих генов SOS-системы *E. coli*. В данной работе использовали УФ-свет длиной волны 254 нм.

**Определение эффективных доз УФ-облучения.** Для проведения экспериментов использовали метод, описанный в работе, для снижения экранной активности действия питательной среды LB при облучении бактерии УФ-светом [9]. Культуры биосенсоров, выращенные до ранней логарифмической фазы, центрифугировали (при 10000 g) для осаждения бактерий, осадок ресуспендировали в равном объеме натрий-фосфатного буфера (PBS). Аликвоты суспензии (по 160 мкл) наносили в лунки стерильного планшета и подвергали УФ-облучению в диапазоне доз 12–60 Дж/м<sup>2</sup> с интервалом 12 Дж/м<sup>2</sup>, контролем служила необлученная культура. После облучения в каждую лунку добавляли 40 мкл бульона LB и инкубировали 90 мин при 37°C. Затем проводили измерение люминесценции на микропланшетном ридере StatFax 4400, Awareness Technology Inc (США).

Для облучения использовали ртутную лампу низкого давления OSRAM Germicidal PURITEC HNS G5 8W, Osram (Италия), как источник УФС с  $\lambda \geq 254$  нм. Дозу облучения контролировали трехканальным УФ-радиометром ТКА-ПКМ (12), Научно-техническое предприятие “ТКА” (Россия).

**Определение влияния  $D_2O$  на SOS-ответ биосенсоров, индуцированный УФ-облучением.** Использовали бактериальные культуры, выращенные до ранней логарифмической фазы, как описывали выше. После осаждения клеточный осадок ресуспендировали в PBS с содержанием  $D_2O$  5; 7,5; 9 и 10%; полученную суспензию наносили в лунки планшета и воздействовали УФ-светом в дозе 12 Дж/м<sup>2</sup>. Объем в лунках довели до 200 мкл

бульоном LB, и инкубировали планшеты в течение 90 мин при 37°C. По истечении времени инкубации измеряли интенсивность люминесценции, выраженную в относительных единицах светового потока (relative light units – RLU).

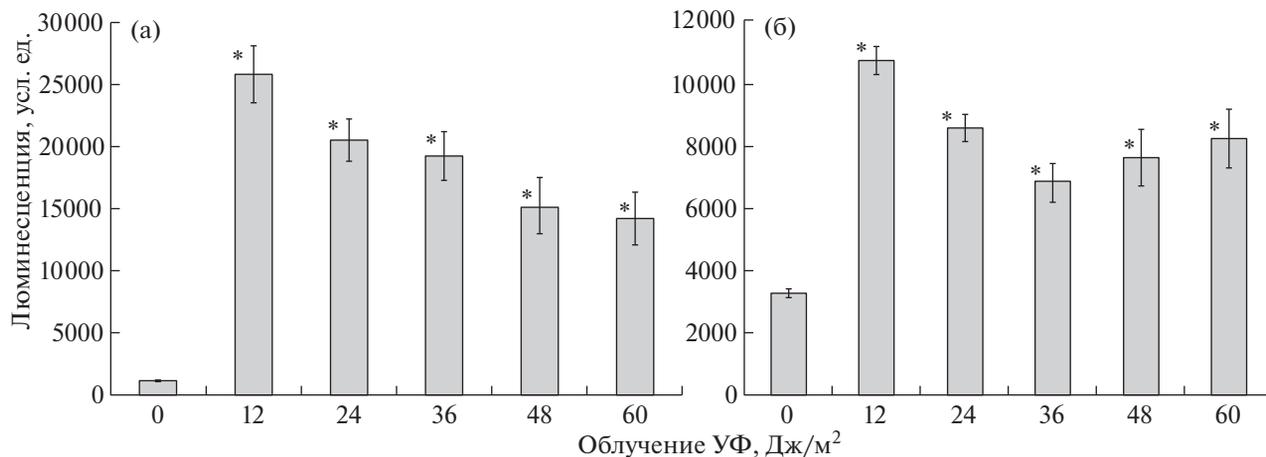
**Определение выживаемости бактерий *E. coli*.** Для определения влияния исследуемых факторов на выживаемость бактерий ночную культуру биосенсора pColD-lux разбавляли в свежей жидкой среде LB, доводя содержание бактерий до концентрации 10<sup>7</sup> кл/мл. Затем инкубировали при 37°C в течение 120 мин с аэрацией до ранней экспоненциальной фазы и использовали для экспериментов с УФ-облучением, как указано выше. После проведения эксперимента и считывания интенсивности люминесценции биосенсора с каждой лунки планшета отбирали по 100 мкл суспензии и пошагово разбавляли в физиологическом растворе до 10<sup>-5</sup> и высевали по 100 мкл из разных разведений на чашки Петри с твердой питательной средой LB. После 20 ч инкубации при 37°C подсчитывали число выросших колоний на чашках и пересчитывали на число колониеобразующих единиц (КОЕ).

**Статистическая обработка.** Полученные в ходе опытов данные были подвергнуты статистической обработке с вычислением среднего значения показателя и его ошибки. Значимость различий средних значений вычисляли с помощью *t*-критерия Стьюдента. Для вывода о статистической значимости различий полученных данных считали достаточной вероятность ошибки  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

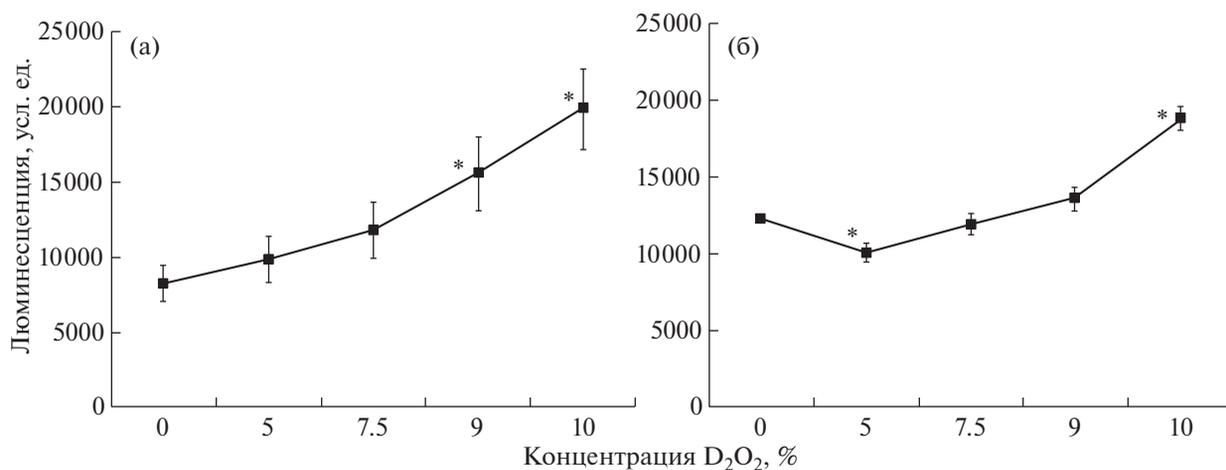
Результаты изучения люминесценции биосенсоров pColD-lux и pRecA-lux, полученные в трех независимых экспериментах в восьми повторностях в каждом, приведены на рис. 1.

Наиболее интенсивную люминесценцию биосенсоров наблюдали при облучении УФ-светом в дозе 12 Дж/м<sup>2</sup>. Более высокие дозы УФ были менее эффективны в индукции люминесценции, что возможно при гибели бактерий или при повреждении высокими дозами УФ белков, обеспечивающих люминесценцию. Надо отметить, что люминесценция биосенсора pColD-lux зависела от дозы УФ-облучения и снижалась от 25 770 до 14 189 усл. ед. ( $p = 5.0 \times 10^{-4}$ ) при дозах УФ-облучения от 12 до 60 Дж/м<sup>2</sup> (рис. 1, а). В случае биосенсора pRec-lux люминесценция была равна 107 170 и 82 145 усл. ед. ( $p = 2.0 \times 10^{-2}$ ) при дозах облучения 12 и 60 Дж/м<sup>2</sup> соответственно. При облучении промежуточными дозами УФ наблюдалась нелинейная зависимость свечения биосенсора pRec-lux (рис. 1, б).



**Рис. 1.** Люминесценция биосенсоров pColD-lux (а) и pRec-lux (б) при воздействии УФ-светом в дозах от 0 до 60 Дж/м<sup>2</sup>. \*Статистически значимые различия между необлученными и облученными образцами ( $p < 0.05$ ).

**Fig. 1.** Luminescence of the biosensors pColD-lux (a) and pRec-lux (b) irradiated with UV light at doses from 0 to 60 J/m<sup>2</sup>. \*Statistically significant differences between non-irradiated and irradiated samples ( $p < 0.05$ ).



**Рис. 2.** Люминесценция биосенсоров pColD-lux (а) и pRec-lux (б), при воздействии УФ-светом в дозе 12 Дж/м<sup>2</sup> и инкубированных в течение 90 мин в питательной среде, содержащей от 0 до 10% D<sub>2</sub>O. \*Статистически значимые различия между облученными образцами без и с D<sub>2</sub>O ( $p < 0.05$ ).

**Fig. 2.** Luminescence of the biosensors pColD-lux (a) and pRec-lux (b) irradiated with UV light at a dose of 12 J/m<sup>2</sup> and incubated for 90 min in a culture medium containing from 0 to 10% D<sub>2</sub>O. \*Statistically significant differences between irradiated samples without and with D<sub>2</sub>O ( $p < 0.05$ ).

Для изучения влияния D<sub>2</sub>O на индукцию SOS-ответа у *E. coli* в ответ на воздействие УФ-света (254 нм) суспензию бактерий биосенсоров в PBS с содержанием D<sub>2</sub>O 5; 7.5; 9 и 10% облучали УФ в дозе 12 Дж/м<sup>2</sup>. Затем суспензию облученных бактерий обогащали питательной средой LB и инкубировали в течение 90 мин при 37°C. В каче-

стве контроля служила культура в PBS без D<sub>2</sub>O. По завершении времени инкубации для оценки уровня экспрессии SOS-генов измеряли интенсивность люминесценции биосенсоров. Полученные результаты представлены на рис. 2.

Наблюдалось зависимое от концентрации D<sub>2</sub>O повышение люминесценции биосенсора pColD-

**Таблица 1.** Показатели люминесценции и выживаемости бактерий биосенсора pColD-lux при воздействии УФ-светом в дозе 12 Дж/м<sup>2</sup> и инкубированного в течение 90 мин в питательной среде без и с D<sub>2</sub>O в концентрации 10%

**Table 1.** Indicators of luminescence and survival of bacteria from the pColD-lux biosensor irradiated with UV light at a dose of 12 J/m<sup>2</sup> and incubated for 90 min in a culture medium without and with D<sub>2</sub>O at a concentration of 10%

Показатели	Без D <sub>2</sub> O		+D <sub>2</sub> O 10%	
	Без УФ	УФ	Без УФ	УФ
Люминесценция, отн. ед.	1685.4 ± 76.7**	39 854.5 ± 3798.9	1 485.4 ± 29.0	47 819.0 ± 4615.6
КОЕ, 10 <sup>7</sup>	60.6 ± 6.7	20.3 ± 2.3	42.5 ± 1.5	11.9* ± 1.7
Выживаемость, %	100.0	33.4	70.1	19.6
Люминесценция на 10 <sup>7</sup> КОЕ, отн. ед.	30.2 ± 3.7	2111.1 ± 268.6	35.2 ± 1.1	5030.3* ± 1 230.0

\*Статистически значимые различия между облученными образцами без и с D<sub>2</sub>O ( $p < 0.05$ ).

\*\*Стандартная ошибка среднего.

lux (рис. 2, а). Максимальный уровень свечения составил 19 826 усл. ед. при содержании 10% D<sub>2</sub>O в среде культивирования, изменение было значимым относительно величины люминесценции 8168 усл. ед. облученного контроля с отсутствием дейтерия ( $p = 2.3 \times 10^{-4}$ ).

Индукцированный УФ-облучением ответ биосенсора pResA-lux демонстрировал нелинейную зависимость от концентрации оксида дейтерия (рис. 2, б). Люминесценция клеток биосенсора снижалась до 100 758 усл. ед. при наличии 5% D<sub>2</sub>O в среде относительно облученных контрольных образцов без дейтерия со значением люминесценции 122 174 усл. ед. ( $p = 2.8 \times 10^{-2}$ ). При более высоких концентрациях D<sub>2</sub>O в среде наблюдали повышение интенсивности свечения. Так, в среде с 10% D<sub>2</sub>O интенсивность люминесценции составила 188 052 усл. ед., что в 1.5 раза больше, чем при УФ-облучении в среде без D<sub>2</sub>O ( $p = 1.6 \times 10^{-7}$ ).

Была проведена серия экспериментов по определению влияния УФ-облучения и D<sub>2</sub>O на жизнеспособность бактерий биосенсора pColD-lux. Для этого после считывания интенсивности люминесценции с каждой лунки планшета отбирали по 100 мкл суспензии и пошагово разбавляли в физиологическом растворе до 10<sup>-5</sup> и высевали по 100 мкл из разных разбавлений на чашки Петри с твердой питательной средой LB. После 20 ч инкубации при 37°C подсчитывали число выросших колоний

на чашках и пересчитывали на число колониеобразующих единиц (КОЕ). Полученные результаты приведены в табл. 1. В контрольном варианте эксперимента (без D<sub>2</sub>O) УФ снижал выживаемость бактерий с  $60.6 \times 10^7$  до  $20.3 \times 10^7$  КОЕ ( $p = 5.6 \times 10^{-5}$ ). Уменьшение числа КОЕ при наличии 10% D<sub>2</sub>O в среде с  $60.6 \times 10^7$  до  $42.5 \times 10^7$  КОЕ не было значимым ( $p = 1.6 \times 10^{-1}$ ). Сочетание облучения и дейтерирования снижало выживаемость бактерий еще больше – с  $60.6 \times 10^7$  в контроле до  $11.9 \times 10^7$  КОЕ ( $p = 1.2 \times 10^{-2}$ ).

В табл. 1 также приведены результаты пересчета показателей интенсивности люминесценции биосенсора pCol-lux на показатели выживаемости бактерий, т.е. на 10<sup>7</sup> КОЕ. Из представленных данных следует, что облучение биосенсора УФ в дозе 12 Дж/м<sup>2</sup> приводит к усилению интенсивности люминесценции биосенсора с 2111.1 в среде без D<sub>2</sub>O до 5030.3 отн. ед. на 10<sup>7</sup> КОЕ в среде с D<sub>2</sub>O. Интенсивность люминесценции биосенсора была в 2.5 раза выше в среде с дейтерием, чем без него.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В отличие от ионизирующего излучения, фотоны УФ-света обладают малой энергией (3–5 эВ), которая недостаточна для ионизации молекул в клетке. Поэтому биологическое действие УФ-лу-

чей обусловлено в основном процессами возбуждения биологически важных молекул в клетке.

В основе генотоксического действия УФ-лучей лежит способность ДНК интенсивно поглощать жесткий ультрафиолет с длиной волны  $\approx 254$  нм. Наиболее интенсивно УФ поглощают пиримидиновые основания, что приводит к образованию димеров тимин–тимин и тимин–цитозин. Наряду с димерами под влиянием УФ-облучения в структуре ДНК возникают и другие фотопродукты: 6,4-фотопродукт, фотогидраты пиримидинов, тиминовые гликоли, сшивки ДНК–белок [10].

С изучением механизма действия УФ-облучения на микроорганизмы связано открытие в 60-х годах XX века эксцизионной и пострепликативной репарации повреждений ДНК. Дальнейшие исследования механизмов восстановления ДНК-повреждений, вызванных УФ-светом, внесли существенный вклад в понимание природы мутагенеза [10].

У бактерий *E. coli* SOS-ответ представляет собой скоординированную индукцию около 40 генов, активирующихся в ответ на повреждение ДНК, а также на остановку репликации различными химическими и физическими агентами, такими как УФ-излучение, перекись водорода, митомицин, блеомицин и др. [11]. Остановка синтеза ДНК является причиной образования однонитевых разрывов ДНК (ssDNA) и, соответственно, активации SOS-регулона в клетках *E. coli*. В самом начале SOS-ответа активируется белок RecA, для активации которого необходимы одноцепочечная ДНК и АТФ. SOS-ответ запускается очень быстро, спустя всего несколько минут после активации RecA. Под действием RecA происходит расщепление белка LexA, который является репрессором генов SOS-регулона и кодируется геном *lexA*. Молекулярные механизмы индукции SOS-ответа в клетках *E. coli* детально исследованы и обобщены в обзорах [11–14]. Экспрессия генов SOS-регулона происходит поочередно. Сначала экспрессируются гены эксцизионной репарации нуклеотидов, далее начинается экспрессия генов *recA* и *recN*, продукты которых участвуют в рекомбинационной репарации. Если после индукции первых SOS-генов в ДНК все еще остаются повреждения, начинается экспрессия генов *umuD* и *umuC*, кодирующих ДНК-полимеразу V (мутасому), и генов, кодирующих колицины, индукция которых ведет к лизису клетки. Гены колицинов активируются при наличии не удаленных на ранних этапах репарации повреждений ДНК, к которым относятся объемные аддукты, тиминовые димеры и межнитевые сшивки, приводящие к остановке репликации ДНК. Это происходит, по оценочным данным, примерно через 40 мин после индукции первых SOS-генов [15].

Таким образом, использованные нами биосенсоры pRecA-lux и pColD-lux основаны на применении генетической конструкции с промоторами генов *recA* и *colD* начального и терминального этапов SOS-ответа бактерий *E. coli*. В наших экспериментах присутствие дейтерия в среде усиливало транскрипцию с промоторов указанных генов, индуцированную УФ-светом.

Ранее усиливающее действие дейтерия на SOS-ответ бактерий *E. coli* на ДНК-повреждающее действие химических генотоксикантов, как 4-нитрохиолин-1-оксидом, N-нитрозо-N-метилмочевина и митомицин С, мы объясняли возможной повышенной прочностью связи генотоксикант – ДНК в дейтерированных участках взаимодействующих молекул и, соответственно, сдвигу баланса между скоростью накопления повреждений и скоростью восстановления исходной структуры ДНК ферментами репарационной системы [6]. Однако в случае с УФ мы имеем дело с участками ДНК, содержащими преимущественно димеры тимин–тимин или тимин–цитозин, которые приводят к остановке синтеза ДНК, образованию однонитевых разрывов, что и запускает индукцию SOS-ответа в клетках *E. coli*. В отличие от УФ химические генотоксиканты напрямую взаимодействуют с ДНК. Например, 4-нитрохиолин-1-оксидом образует аддукт с ДНК, N-нитрозо-N-метилмочевина алкилирует и митомицин С вызывает сшивки ДНК–ДНК и ДНК–белок. Несмотря на разнообразие механизмов взаимодействия с ДНК, генотоксиканты, в конечном итоге, вызывают остановку синтеза ДНК, образование однонитевых разрывов и, как следствие, индукцию SOS-ответа. В этой связи можно предполагать, что дейтерирование снижает активность ферментов репарации, что может привести к снижению скорости репарации участков ДНК с димерами и сдвигу баланса между скоростью накопления повреждений и скоростью восстановления исходной структуры ДНК. В результате такого сдвига происходит накопление повреждений в структуре ДНК и в ответ на это повышается экспрессия генов SOS-ответа в клетке, обеспечивающая восстановление поврежденных участков ДНК.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, с использованием биосенсоров на основе *Escherichia coli* показано, что оксид дейтерия (D<sub>2</sub>O) усиливает SOS-ответ бактерий, индуцированный УФ-облучением. Использованные биосенсоры содержат гибридные плазмиды с lux-опероном, поставленным под контроль промоторов генов *recA* и *colD*, что позволяет судить о SOS-ответе бактерий по изменению интенсивности их люминесценции. D<sub>2</sub>O при сочетанном

воздействии с УФ-облучением значимо снижал выживаемость бактерий. Пересчет показателей интенсивности люминесценции на  $10^7$  жизнеспособных клеток показал, что облучение биосенсора pColD-lux УФ-светом в дозе 12 Дж/м<sup>2</sup> усиливает интенсивность люминесценции бактерий в среде с дейтерием в 2.5 раза относительно показателя люминесценции клеток в среде с отсутствием дейтерия.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (№ 19-04-00200/21).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Urey H.C., Brickwedde F.G., Murphy G.M. A hydrogen isotope of mass 2 // *Phys. Rev.* 1932. V. 39. № 1. P. 164–165.  
<https://doi.org/10.1103/PhysRev.39.164>
2. Katz J.J., Crespi H.L., Hasterlik R.J. et al. Some observations on biological effects of deuterium, with special reference to effects on neoplastic processes // *J. Natl. Cancer Inst.* 1957. V. 18. № 5. P. 641–659.  
<https://doi.org/10.1093/jnci/18.5.641>
3. Katz J.J. The biology of heavy water. What happens to experimental organisms that have been raised on water in which the hydrogen is not the common isotope of mass one but the heavy isotope of mass two? // *Sci. Am.* 1960. V. 203. P. 106–116.
4. Thomson J.F. Physiological effects of D<sub>2</sub>O in mammals // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1960. V. 84. P. 736–744.  
<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1960.tb39105.x>
5. Furuno-Fukushi I., Matsudaira H. Mutation induction by tritiated water and effects of deuterium oxide in cultured mouse leukemia cells // *Radiat. Res.* 1985. V. 103. № 3. P. 466–470.  
<https://doi.org/10.2307/3576770>
6. Абилев С.К., Смирнова С.В., Игонина Е.В. и др. Оксид дейтерия усиливает SOS-ответ клеток *Escherichia coli*, индуцированный генотоксикантами // Докл. Академии наук. 2018. Т. 480. № 2. С. 239–243. [Abilev S.K., Smirnova S.V., Igonina E.V. et al. Deuterium oxide enhances *Escherichia coli* SOS response induced by genotoxicants // *Doklady Biological Sciences.* 2018. V. 480. № 1. P. 85–89. (In Russ.)]  
<https://doi.org/10.1134/S0012496618030031>
7. Смирнова С.В., Абилев С.К., Игонина Е.В. и др. Влияние дейтерия на индукцию *ada*-регулона алкилирующими веществами в клетках *Escherichia coli* // Генетика. 2018. Т. 54. № 8. С. 1–7. [Smirnova S.V., Abilev S.K., Igonina E.V. et al. The effect of deuterium on induction of the *ada*-regulon with alkylating compounds in the cells of *Escherichia coli* // *Russ. J. Genet.* 2018. V. 54. P. 919–924. (In Russ.)]  
<https://doi.org/10.1134/S1022795418080124>
8. Абилев С.К., Игонина Е.В., Смирнова С.В. и др. Влияние дейтерия на экспрессию индуцибельных генов у *Escherichia coli* // Радиационная биология. Радиоэкология. 2019. Т. 59. № 3. С. 305–310. [Abilev S.K., Igonina E.V., Smirnova S.V. et al. The effect of deuterium on the expression of inducible genes *Escherichia coli* // *Biol. Bull.* 2019. T. 46. № 11. S. 1595–1600. (In Russ.)]  
<https://doi.org/10.1134/S0869803119030032>
9. Котова В.Ю., Манухов И.В., Завильгельский Г.Б. Lux-биосенсоры для детекции SOS-ответа, теплового шока и окислительного стресса // Биотехнология. 2009. № 6. С. 16–25. [Kotova V.Y., Manukhov I.V., Zavilgelskii G.B. Lux-biosensors for detection of SOS-response, heat shock, and oxidative stress // *Applied Biochemistry and Microbiology.* 2010. V. 46. № 8. P. 781–788. (In Russ.)]  
<https://doi.org/10.1134/S0003683810080089>
10. Тарасов В.А. Молекулярные механизмы репарации и мутагенеза. М.: Наука, 1982. 228 с. [Tarasov V.A. Molekulyarnyye mekhanizmy reparatsii i mutagenеза. М.: Nauka, 1982. 228 s. (In Russ.)]
11. Завильгельский Г.Б. SOS-репарации 60 лет // Молек. биология. 2013. Т. 47. № 5. С. 699–706. [Zavilgelskii G.B. SOS-repair—60 years // *Molekular Biology.* 2013. V. 47. № 5. P. 699–706. (In Russ.)]  
<https://doi.org/10.7868/S0026898413050224>
12. Ушаков В.Ю. SOS-система репарации ДНК у бактерий (обзор) // Вестн. Пермского ун-та. 2010. № 2. С. 19–30 [Ushakov V.Yu. SOS-sistema reparatsii DNK u bakteriy (obzor) // *Vestnik Permskogo Universiteta.* 2010. № 2. S. 19–30. (In Russ.)]
13. Maslowska K.H., Makiela Dzbenska K., Fijalkowska I.J. The SOS system: A complex and tightly regulated response to DNA damage // *Environ. Molec. Mutagenesis.* 2019. V. 60. № 4. P. 368–384.  
<https://doi.org/10.1002/em.22267>
14. Baharoglu Z., Mazel D. SOS, the formidable strategy of bacteria against aggressions // *FEMS Microbiol. Rev.* 2014. V. 38. № 6. P. 1126–1145.  
<https://doi.org/10.1002/em.22267>
15. Tippin B., Pham P., Goodman M.F. Error-prone replication for better or worse // *Trends Microbiol.* 2004. V. 12. P. 288–295.  
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2004.04.004>

## Effect of Deuterium Oxide on *recA* and *colD* Genes Expression Induced by UV Radiation in *Esheria coli* Cells

S. K. Abilev<sup>a,b,#</sup>, S. V. Smirnova<sup>a</sup>, and T. N. Shapiro<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Vavilov Institute of General Genetics Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>b</sup> Department of Genetics, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

<sup>#</sup>E-mail: abilev@vigg.ru

It was shown for the first time that deuteration of *Esheria coli* bacteria with deuterium oxide (D<sub>2</sub>O) at concentrations from 5 to 10% in the medium leads to an enhancement of the SOS response in the biosensors *E. coli* MG1655 (pColD::lux) and *E. coli* MG1655 (pRecA::lux) induced by UV at a dose of 12 J/m<sup>2</sup>. The biosensors used in this work contain hybrid plasmids carrying the *luxCDABE* operon of the *Photobacterium luminescens* photobacterium, placed under the control of the *cda* (*colD*) and *recA* genes promoters. The induction of genotoxic factors in biosensors indicates the activation of the corresponding *E. coli* SOS system genes expression. A simultaneous study of the luminescence intensity and the cell viability of *E. coli* MG1655 biosensor (pCol-lux) bacteria showed that UV irradiation at a dose of 12 J/m<sup>2</sup> increases the luminescence intensity from 2111.1 in a medium without D<sub>2</sub>O to 5030.3 RLU for 10<sup>7</sup> viable cells in a medium with D<sub>2</sub>O. The luminescence intensity of the biosensor was 2.5 times higher in a medium with deuterium than without it.

**Keywords:** biosensors, *Esheria coli*, deuterium oxide, UV irradiation, SOS response, luminescence

РАДИАЦИОННАЯ  
БИОХИМИЯ

УДК 577.1:539.1.047:614.876

ВЛИЯНИЕ ПОЛИВИТАМИНОВ НА СОДЕРЖАНИЕ ГЛУТАТИОНА  
И ЛИПИДНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ У ЛЮДЕЙ,  
ПОДВЕРГШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ РАДИАЦИИ  
НИЗКОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ© 2022 г. Г. Ф. Иваненко<sup>1,\*</sup><sup>1</sup> Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия

\*E-mail: galiv03@rambler.ru

Поступила в редакцию 10.11.2021 г.

После доработки 21.05.2022 г.

Принята к публикации 29.06.2022 г.

Проведено изучение влияния поливитаминного комплекса на состояния окислительно-восстановительной системы глутатиона (восстановленная форма GSH, окисленная форма GSSG) и липидных антиоксидантов (витаминов E и A) в плазме крови ликвидаторов Чернобыльской катастрофы, работавших в разные сроки в зоне аварии, и детей, подвергшихся воздействию экстремальных факторов внешней среды в результате этого радиационного инцидента. Пероральная терапия комбинированным препаратом, действие которой обусловлено эффектами витаминов, макро- и микроэлементов, входящих в его состав, приводит к нормализации антиоксидантной системы в плазме крови у облученных лиц обследованных групп в ранние сроки (1–5 мес.) после его использования. Эта защитная реакция имеет ограничение, так, через 10 мес. эффективность терапии у ликвидаторов аварии снижается за счет расходования антиоксидантов в плазме крови, о чем свидетельствуют значення рассматриваемых показателей, соответствующие уровням облученного контроля (до приема поливитаминов). В группе детей, живущих на территории, загрязненной радионуклидами, обнаружено увеличение GSSG и витамина A в плазме крови через 10 мес. после витаминотерапии. Результаты комплексной оценки индивидуальных отклонений биохимических показателей от нормы после терапии поливитаминами у людей, подвергшихся воздействию радиации низкой интенсивности, свидетельствуют о радиогенной этиологии выявленных патологий. Использование витаминных препаратов требует определенной осторожности и более глубокого изучения механизмов реализации их лечебных эффектов, направленных на снижение возможных рисков для здоровья, связанных с воздействием ионизирующего излучения в низких дозах.

**Ключевые слова:** дети, ликвидаторы, плазма крови, ионизирующее излучение, витамины, глутатион**DOI:** 10.31857/S0869803122050058

Окислительный стресс может иметь разную этиологию, в том числе ассоциирован с воздействием такого экзогенного фактора как ионизирующее излучение. Усиление свободнорадикального окисления, связанного с облучением в малых дозах, ведет к ответной реакции гидрофобной и гидрофильной части антиоксидантной системы организма [1–3].

Существенная роль в определении устойчивости организма к действию радиации принадлежит природным водо- и жирорастворимым антиоксидантам [4]. Тиоловые соединения и тиолдисульфидная система играют важную роль в сложном многокомпонентном механизме антиоксидантной защиты. Уникальные химические свойства тиолов обуславливают их высокую избирательную антиоксидантную активность, способность

проявлять антирадикальное (ловушки радикалов) и антиперекисное действие [5]. Глутатион, наиболее распространенный трипептид тиол ( $\gamma$ -глутамил-цистеинил-глицин, GSH), является основным компонентом клеточной антиоксидантной системы. GSH выступают в качестве индикатора окислительно-восстановительного состояния клеток, а также хранения и транспорта цистеина. GSH, как и незаменимые липидные антиоксиданты, защищают организм от действия свободных радикалов и перекисных соединений и, кроме того, участвуют в восстановлении, по крайней мере, двух витаминов:  $\alpha$ -ТФ и аскорбиновой кислоты, усиливая действие последних и препятствуя перекисному окислению липидов (ПОЛ) [6, 7]. Вследствие своей важности GSH поддерживается в высоких (ммоль/л) концентрациях в клетках млекопитающих с помощью кон-

ститутивного биосинтеза *de novo* с участием двух ферментов биосинтетического пути [8, 9].

В пищевых продуктах восстановленный глутатион найден в высоких концентрациях, однако он разлагается в желудочно-кишечном тракте и плохо усваивается людьми [10]. Пероральное введение может считаться терапевтическим преимуществом при снижении количества циркулирующего в плазме GSH. Разработка инновационной рецептуры GSH для усиления его клеточного окислительно-восстановительного защитного действия показала, что глутатион, принимаемый в таблетках с оробукальным быстрым-медленным высвобождением для ротовой полости, способен повысить уровень GSH в крови [11].

Предварительное исследование по применению перорального липосомального глутатиона в схеме лечения COVID-19 ассоциированной пневмонии показало положительные результаты. Авторы отмечают, что предложенная гипотеза должна быть подтверждена в более крупных эпидемиологических и экспериментальных исследованиях, а также необходимы клинические испытания, чтобы объективно оценить эффективность N-ацетил-L цистеин (NAC) и возможность использования глутатиона в качестве средства для лечения и профилактики инфекции COVID-19 [12].

Изучение механизмов неспецифической резистентности организма к неблагоприятным воздействиям среды, одним из которых является ионизирующее излучение низкой интенсивности, имеет большое значение для профилактической медицины. Несмотря на побочные эффекты, ионизирующее излучение используется в качестве диагностических и терапевтических инструментов. Диагностические дозы облучения составляют обычно 10 сГр или меньше, и их применение всегда должно определяться на основе соотношения пользы и риска. Воздействие ионизирующих излучений в малых дозах может увеличивать уровень генетических дефектов в соматических клетках организма человека и его потомства, потому требуются разработка и реализация стратегии биологической защиты от таких последствий [13–16].

Применение пищевых составов, содержащих несколько антиоксидантов, которые считаются безопасными, могут обеспечить биологическую защиту от радиации. Предполагают, что не существует дозы ионизирующего излучения, которую можно было бы считать полностью безопасной [17]. Предлагаемая стратегия повышения уровня антиоксидантов в организме может быть реализована в группах населения, живущих в регионах с повышенным радиационным фоном, для защиты от долгосрочных неблагоприятных последствий. Естественные соединения или нутрицевтики со-

держатся в наших диетах и обычно считаются безопасными для клинического использования в качестве профилактических или терапевтических средств. Биологические (природные) активные добавки обычно считаются более подходящими для использования в медицинских целях, чем “неестественные” синтетические аналоги, потому что нутрицевтики хорошо переносятся и обладают незначительной токсичностью, возможно, даже когда употребляется в больших количествах [18].

Использование агентов для минимизации вредных эффектов лучевой терапии путем введения соединений после того, как произошло облучение, т.е. постконтактная профилактика, заключается в смягчении последствий, при котором средство ускоряет восстановление поврежденных тканей и органов [19].

Пищевые антиоксиданты (витамины А, С и Е, б-каротин и селен) и агенты, повышающие уровень глутатиона (NAC и липоевая кислота), потреблялись людьми в течение десятилетий. В крови и других биологических жидкостях, где антиоксидантные ферменты отсутствуют или присутствует только в небольших количествах, необходимо наличие низкомолекулярных антиоксидантов. К ним относятся жирорастворимые антиоксиданты, которые локализуются в клеточных мембранах и липопротеинах, в то время как водорастворимые антиоксиданты присутствуют в водных жидкостях, таких как кровь, внутриклеточная и интерстициальная жидкости. Антиоксиданты могут улавливать АФК (активные формы кислорода) до того, как они вызовут повреждение различных биологических структур, и снижать активность ПОЛ в биомембранах [20, 21].

Витамин Е, часто получаемый перорально из потребляемых пищевых продуктов, является основным липофильным антиоксидантом. Присутствует во всех клеточных мембранах, где может связываться с белковыми комплексами и влиять на окислительные изменения, происходящие в органеллах. Витамин Е действует, по крайней мере, с помощью двух различных механизмов: непосредственно поглощает АФК и активирует антиоксидантные ферменты, такие как глутатионпероксидазу, каталазу печени, супероксиддисмутазу, глутатион-S-трансферазу, глутатионредуктазу [22]. Известно, что антиоксиданты, такие как витамины А, Е, аскорбиновая кислота, глутатион и селен, проявляют синергетические свойства. Такой усиливающий эффект взаимодействия двух или более факторов позволяет говорить о системной организации антиоксидантной системы. Все эти соединения, благодаря обратимым окислительно-восстановительным переходам, находящимся под контролем соответствующих ферментов, обеспечивают транспорт водорода с восстанови-

тельных НАДФН и НАДН, образующихся в процессах ферментативного окисления жиров и углеводов в биомембранах. Водород используется для инактивации липидных радикалов, предотвращающих ПОЛ и разрушение клеток [20, 23].

В отдельных случаях при дефиците или повышенной дозировке некоторых витаминов наблюдается, соответственно, блокировка превращения нормальных клеток в злокачественные или стимуляция опухолевого роста [24]. Поэтому использование витаминных препаратов в клинической онкологии, например, с целью активации иммунных реакций, требует определенной осторожности.

В данном сообщении изложены результаты влияния поливитаминного комплекса на состояние тиолдисульфидной системы и незаменимых липидных антиоксидантов (витаминов Е и А), а также индивидуальная оценка зависимостей между рассматриваемыми биохимическими параметрами плазмы крови у ликвидаторов аварии на Чернобыльской АЭС и детей, проживающих на загрязненной радионуклидами территории, через 1, 5 и 10 мес. после курса терапии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Долгосрочные исследования проводили в разных возрастных группах людей, подвергшихся воздействию радиации низкой интенсивности.

Ликвидаторы аварии на ЧАЭС первой группы ( $n = 22$ ), работавшие первые дни в зоне радиационной катастрофы, получили суммарные дозовые нагрузки в диапазоне от 2 до 150 сЗв. Они были переселены за 30-километровую зону в г. Славутич, где получали Протовит, содержащий важнейшие жир- и водорастворимые витамины (по 15 капель 2 раза в день, в течение 1 мес.). Биохимический анализ проводили в Москве через 1 мес. и 10 мес. после курса поливитаминов. Ликвидаторы аварии на ЧАЭС второй группы ( $n = 16$ ), выезжавшие с мая 1986 г. и в 1987. в г. Припять, получили суммарные дозовые нагрузки от 0.1 до 70 сЗв. Уровень глутатиона и жирорастворимых АО в плазме определяли через 5 мес. после применения витаминного препарата Декамевит (1 таблетка 2 раза в день в течение 20 дней) в Москве.

В группы сравнения вошли лица, не принимавшие витамины: жители Москвы, не подвергавшиеся радиационному воздействию (первая группа,  $n = 21$ ) и жители г. Славутич, проживающие в условиях длительного действия ионизирующего излучения в малых дозах в результате аварии на ЧАЭС (вторая группа,  $n = 29$ ). В период взятия крови (1989–1991 гг.), как свидетельствуют литературные данные, загрязнение городской территории Славутича радионуклидами составило от 1 до 5 Ки/км<sup>2</sup> [25].

Дети г. Славутич, представляющие собой две независимые группы, принимали Глутамевит ( $\frac{1}{2}$  таблетки 1 раз в день в течение 2 нед). Через 1 мес. после курса поливитаминного комплекса (поливитамины + минералы) биохимические показатели определяли в первой группе детей ( $n_1 = 9$ ) и во второй группе ( $n_2 = 9$ ), а через 10 мес. только во второй группе детей ( $n_2 = 9$ ). К сожалению, в связи с организационными сложностями, не была исследована кровь у детей до начала курса приема препарата. Поэтому полученные данные сравнивались с показателями практически здоровых детей г. Славутич ( $n = 5$ ), не принимавших витамины, а также детей, приехавших в Мценск из других городов ( $n = 13$ ), и детей из Москвы, не подвергавшихся воздействию радиации ( $n = 9$ ) и не принимавших поливитамины.

Спектрофлуориметрическое определение содержания глутатиона (GSH, GSSG) в плазме крови было выполнено методом, описанном в работах [26, 27] в нашей модификации, детально изложенной ранее [3]. Незаменимые липидные антиоксиданты витамин Е и А определяли со соответствующими стандартами, как описано в работе [28]. Все результаты выражали в мкмоль/л.

Статистическую обработку данных проводили с помощью компьютерной программы Sigma Plot версия 8.0. Результаты выражали как среднее значение с ошибкой репрезентативности [ $M \pm m(n)$ ], для оценки статистической значимости различий использовали критерий  $t =$  Стьюдента для парных переменных.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В табл. 1 и 2 представлены экспериментальные данные по оценке влияния комплексного витаминного препарата на содержание водо- и жирорастворимых антиоксидантов в плазме крови у ликвидаторов двух групп и детей, проживающих на загрязненных радионуклидами территориях, в разные сроки после витаминотерапии. В группу сравнения входили люди, не принимавшие витамины и не подвергавшиеся воздействию радиации.

Через 1 мес. после витаминотерапии у ликвидаторов аварии первой группы наблюдалось увеличение содержания GSH и GSSG в плазме крови относительно облученного контроля (до приема комплексного препарата):  $55.5 \pm 5$  против  $15.8 \pm 1$  мкмоль/л и  $41.0 \pm 2.0$  против  $30.9 \pm 1.5$  мкмоль/л соответственно. Изменение соотношений уровней восстановленной и окисленной форм глутатиона приводит к повышению тиолдисульфидного отношения (с  $0.6 \pm 0.1$  до  $1.4 \pm 0.1$  отн. ед.) до показателей жителей Москвы ( $1.6 \pm 0.2$  отн. ед.). Уровни жирорастворимых ан-

**Таблица 1.** Биохимические показатели плазмы крови у взрослых людей, принимавших и не принимавших поливитамины (ликвидаторы аварии на Чернобыльской АЭС, жители г. Славутич с повышенным радиационным фоном в результате аварии на ЧАЭС и необлученные жители г. Москва), [ $M \pm m(n)$ ]

**Table 1.** Biochemical parameters of blood plasma in adults who took and did not take multivitamins (liquidators of the Chernobyl accident, residents of Slavutich with increased radiation background as a result of the Chernobyl accident and non-irradiated residents of Moscow), [ $M \pm m(n)$ ]

Показатели, мкмоль/л	Группа сравнения: жители г. Москва	Группа сравнения: жители г. Славутич (1–5 Ки/км <sup>2</sup> ) [25]	Ликвидаторы аварии на ЧАЭС первой группы (2–150 сЗв)			Ликвидаторы аварии на ЧАЭС второй группы (0.1–70 сЗв)	
			до приема витаминов (облученный контроль)	через 1 мес. после приема витаминного комплекса	через 10 мес. после приема витаминного комплекса	до приема витаминов (облученный контроль)	через 5 мес. после приема витаминного комплекса
GSH	19.4 ± 1.6(21)	<b>33.4 ± 2.9(29)</b>	15.8 ± 1.2(22)	<b>55.5 ± 4.5(15)<sup>ab</sup></b>	25.4 ± 2.8(12) <sup>a</sup>	26.0 ± 2.8(16) <sup>b</sup>	23.9 ± 2.7(16)
GSSG	13.4 ± 1.5(18)	<b>40.4 ± 1.8(28)</b>	<b>30.9 ± 1.5(22)</b>	<b>41.0 ± 2.0(15)<sup>b</sup></b>	<b>33.5 ± 2.4(12)<sup>b</sup></b>	23.3 ± 5.3(8) <sup>b</sup>	<b>10.8 ± 1.2(8)<sup>a</sup></b>
GSH/GSSG	1.6 ± 0.2(18)	0.8 ± 0.1(28)	<b>0.6 ± 0.1(22)</b>	1.4 ± 0.1(15) <sup>a</sup>	<b>0.8 ± 0.1(12)</b>	1.6 ± 0.5(8)	1.8 ± 0.1(8)
Витамин Е	22.3 ± 1.6(21)	13.6 ± 1.1(27)	23.4 ± 1.2(22)	17.8 ± 1.3(15) <sup>a</sup>	<b>10.7 ± 1.1(11)<sup>ab</sup></b>	15.2 ± 1.5(14) <sup>b</sup>	23.9 ± 2.1(14) <sup>a</sup>
Витамин А	3.0 ± 0.2(20)	2.6 ± 0.2(27)	3.5 ± 0.3(22)	3.1 ± 0.3(15)	2.3 ± 0.3(11) <sup>a</sup>	2.2 ± 0.2(14) <sup>b</sup>	2.7 ± 0.2(14)
Возраст, годы	40.2 ± 2.7(21)	41 ± 2(29)	42 ± 2(22)	42.5 ± 2(15)	43.3 ± 2(12)	49.3 ± 2.8(16)	49.8 ± 2.8(16)

Примечание. Статистически значимые различия: <sup>a</sup>по отношению к облученному контролю (показатели у облученных лиц до приема витаминов),  $p < 0.001$ ; <sup>b</sup>по отношению к показателям у необлученных жителей Москвы (группа сравнения),  $p < 0.05$ . Полу жирным шрифтом выделены наиболее изменяющиеся значения (здесь и в табл. 2).

**Таблица 2.** Биохимические показатели плазмы крови у детей, принимавших поливитамины (жители г. Славутич с повышенным радиационным фоном в результате аварии на Чернобыльской АЭС), и не принимавших поливитамины детей г. Мценск, приехавших из чистых регионов, и детей, проживающих в Москве) [ $M \pm m(n)$ ]

**Table 2.** Biochemical parameters of blood plasma in children who took multivitamins (residents of Slavutich with increased radiation background as a result of the Chernobyl accident), and children who did not take multivitamins in Mtsensk, who came from clean regions, and children living in Moscow) [ $M \pm m(n)$ ]

Дети						
Показатели, мкмоль/л	Группа сравнения: жители г. Москва	Группа сравнения: жители г. Мценск	Жители г. Славутич, 1–5 Ки/км <sup>2</sup> [25]			
			Группа сравнения: жители г. Славутич	группа 1	группа 2	
				через 1 мес. после курса витаминов	через 1 мес. после курса витаминов	через 10 мес. после курса витаминов
GSH	8.7 ± 0.9(9)	19.8 ± 2.2(11)	<b>17.3 ± 3.8(5)</b>	<b>74.8 ± 7.6(9)</b>	<b>72.4 ± 8.5(9)</b>	16.0 ± 2.3(8)
GSSG	9.3 ± 0.4(9)	11.8 ± 2.0(11)	<b>23.2 ± 2.9(5)</b>	<b>58.2 ± 3.7(9)</b>	<b>52.3 ± 4.1(9)</b>	<b>41.0 ± 6.5(8)</b>
ТДО	0.9 ± 0.1(9)	2.3 ± 0.4(11)	0.7 ± 0.1(5)	1.3 ± 0.1(9)	1.4 ± 0.1(9)	<b>0.4 ± 0.1(8)</b>
Е	10.8 ± 1.6(9)	9.5 ± 0.6(13)	<b>7.9 ± 0.7(5)</b>	<b>15.6 ± 1.6(9)</b>	<b>16.5 ± 2.4(9)</b>	8.4 ± 0.8(9)
А	1.0 ± 0.1(9)	0.7 ± 0.1(13)	1.4 ± 0.2(5)	2.1 ± 0.3(9)	1.5 ± 0.2(9)	2.0 ± 0.2(9)
Возраст, годы	Новорожденные	0.6 ± 0.1(13)	8.2 ± 1.4(5)	6.1 ± 1.0(9)	5.1 ± 0.7(9)	6.3 ± 0.9(9)

тиоксидантов в плазме крови у ликвидаторов в этот период также соответствуют норме (табл. 1).

Однако через 10 мес. после применения поливитаминов содержание GSH, GSSG и ТДО в плазме крови у ликвидаторов аварии первой

группы снижается до уровня облученного контроля (до приема витаминов), составляя  $25.4 \pm 3.0$ ,  $33.5 \pm 2.4$  мкмоль/л и  $0.8 \pm 0.1$  отн. ед. соответственно. В этот период наблюдается дефицит липидных антиоксидантов – витамина Е и А в плазме крови этих облученных лиц. Так, уровень ви-

тамина Е и А ( $10.7 \pm 1.1$  и  $2.3 \pm 0.3$  мкмоль/л соответственно) снижается по сравнению с показателями, зарегистрированными до приема поливитаминов ( $23.4 \pm 1.2$  и  $3.5 \pm 0.3$  мкмоль/л соответственно) и таковыми у жителей Москвы ( $22.3 \pm 1.6$  и  $3.0 \pm 0.2$  мкмоль соответственно) (табл. 1).

Таким образом, применение поливитаминового комплекса снижает эффект низкоинтенсивного облучения в дозе 2–150 сЗв у ликвидаторов аварии за счет кратковременной (1 мес. после приема препарата) нормализации нарушений в системе АО в плазме. В более поздний период после витаминотерапии (10 мес.) наблюдается существенное снижение эффективности поливитаминовой терапии, проявляющееся нарушениями в сложном многокомпонентном механизме антиоксидантной защиты и развитием окислительного стресса у ликвидаторов аварии, подвергшихся воздействию радиации низкой интенсивности (табл. 1).

В табл. 1 приведены биохимические показатели плазмы крови взрослых жителей г. Славутич, не получавших витаминов, но проживающих в условиях экстремальных факторов внешней среды после Чернобыльской аварии. Анализ данных указывает на наличие окислительного стресса у людей, проживающих на загрязненной радионуклидами территории ( $1-5$  Ки/км<sup>2</sup>), о чем свидетельствуют дефицит витамина Е в плазме крови и нарушения тиолдисульфидной системы (двукратное снижение ТДО по сравнению с таковым у жителей Москвы). Полученные результаты исследований для жителей Славутича сопоставимы с отклонениями в системе водо- и жирорастворимых антиоксидантов в плазме крови у ликвидаторов аварии первой группы через 10 мес. после витаминотерапии (табл. 1).

У участников ликвидации аварии на ЧАЭС второй группы терапия поливитаминами через 5 мес. после ее применения приводит к двукратному снижению уровня GSSG в плазме крови (от  $23.3 \pm 5.3$  до  $10.8 \pm 1.2$  мкмоль/л). При этом содержание GSH и ТДО сохраняется на уровне нанонормальных значений (соответствуют таковым у жителей Москвы). Уровень витамина Е в плазме крови у участников ликвидации повышается в 1.6 раза относительно облученного контроля (от  $15.2 \pm 1.5$  до  $23.9 \pm 2.1$  мкмоль/л) и достигает показателей жителей Москвы ( $22.3 \pm 1.6$  мкмоль/л) через 5 мес. после витаминотерапии (табл. 1).

Таким образом, есть все основания полагать, что пероральная терапия поливитаминами участников ликвидации аварии второй группы, подвергшихся воздействию радиации в более низких дозах по сравнению с ликвидаторами первой группы, имеет высокую эффективность в нормализации уровней антиоксидантной системы.

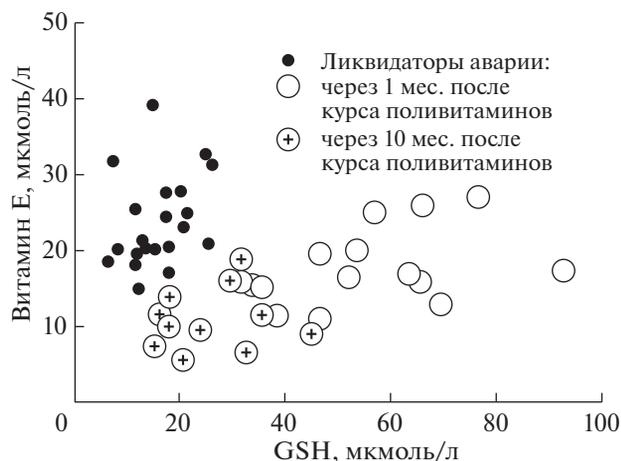
Изменения содержания водо- и жирорастворимых АО в плазме крови у детей, проживающих на радиационно-загрязненной территории в результате аварии на ЧАЭС, через 1 и 10 мес. после применения поливитаминового комплекса представлены в табл. 2. В двух независимых группах (несмотря на их малочисленность) детей, проживающих в Славутиче, обнаружено существенное увеличение содержания GSH и GSSG в плазме крови через 1 мес. после приема поливитаминов по сравнению с показателями у индивидов всех трех групп сравнения. При этом значение ТДО двукратно превышает таковой показатель у детей – жителей того же г. Славутич, не принимавших витамины. Следует отметить возрастание уровня и незаменимого липидного антиоксиданта – витамина Е в плазме крови в этот период относительно рассматриваемого параметра у детей групп сравнения.

В более поздний период (через 10 мес.) после приема препарата содержания GSSG и витамина А в плазме крови у детей сохраняются на высоком уровне. Так, содержание GSSG существенно превышает таковой показатель во всех трех группах сравнения. При этом уровень витамина А в этот срок после лечения у облученных детей выше, чем у необлученных индивидов (жители Москвы), а также у детей – жителей радиационно-загрязненных территорий (г. Славутич, г. Мценск), не принимавших витамины. В то же время содержание GSH и витамина Е в плазме крови у детей через 10 мес. после приема витаминов снижается до значений, регистрируемых в группах сравнения, а величина ТДО достигает минимальных значений ( $0.4 \pm 0.1$  мкмоль/л) (табл. 2).

Таким образом, в ранние сроки (через 1 мес.) после применения поливитаминового комплекса наблюдается частичная нормализация нарушений в системе АО в плазме крови у детей г. Славутич. В отдаленные сроки после приема препарата (10 мес.) у детей, проживающих в районах с повышенным радиационным фоном в результате аварии на ЧАЭС, выявлены нарушения показателей АО статуса в плазме крови.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно устоявшейся радиобиологической концепции облучение в низких дозах не может считаться полностью безопасным, поэтому должны быть приложены все усилия для снижения как дозы радиационного воздействия, так и биологического ущерба, каким бы малым он ни был [17]. Для минимизации токсичности даже такого мощного мутагена, как ионизирующее излучение, могут использоваться пищевые составы, содержащие несколько антиоксидантов [22, 23]. Эффективность *индивидуальной терапии* поливитаминами у ликвидаторов аварии и детей после



**Рис. 1.** Зависимость между содержанием GSH и витамина E в плазме крови у ликвидаторов аварии на ЧАЭС через 1 и 10 мес. после приема поливитаминов (индивидуальные данные).

**Fig. 1.** The relationship between the content of GSH and vitamin E in blood plasma in the liquidators of the Chernobyl accident 1 and 10 months after taking multivitamins (individual data).

Чернобыльской катастрофы оценивалась нами по состоянию антиоксидантной системы: содержанию GSH и витамина E в плазме крови. Из рис. 1 видно, что до приема поливитаминов (облученный контроль) у ликвидаторов содержание витамина E в плазме крови в 1.5 раза превышает (15–40 мкмоль/л) содержание GSH (10–25 мкмоль/л).

Повышение содержания витамина E в плазме крови врачей-рентгенологов, подвергающихся в процессе профессиональной деятельности воздействию ионизирующего излучения в низких дозах, как считают авторы исследования, необходимо для преодоления эффекта увеличения уровня свободных радикалов [29].

В нашем исследовании после приема поливитаминов (через 1 мес.) соотношение между концентрациями витамина E и GSH в плазме крови у ликвидаторов меняется: снижается уровень витамина E (до 10–25 мкмоль/л), но существенно повышается содержание GSH (30–90 мкмоль/л) относительно облученного контроля. В более поздние сроки после витаминотерапии (через 10 мес.) уровень витамина E в плазме крови у ликвидаторов снижается до минимальных значений (5–15 мкмоль/л). Снижается и содержание GSH до 10–45 мкмоль/л, однако у 50% обследованных ликвидаторов уровень глутатиона все еще превышает показатели облученного контроля (до приема витаминов) (рис. 1).

Пероральная терапия поливитаминами у ликвидаторов снизила повышенный уровень витамина E до нормы через 1 мес. после ее примене-

ния, возможно, за счет повышения содержания GSH в плазме крови (рис. 1).

О взаимосвязи  $\alpha$ -токоферола и GSH в биологических системах при окислительном стрессе отмечается в ряде работ. Глутатион повышает и пролонгирует защитные функции других АО. Так, GSH осуществляет восстановительную регенерацию окисленных форм двух активных липидзависимых антиоксидантов – аскорбиновой кислоты (витамина C) и витамина E, что служит условием стабилизации буферной емкости антиоксидантной системы [20, 21]. Кроме того, полагают, что в гетерогенных системах, содержащих липидную и водную фазу, пара аскорбат/ $\alpha$ -токоферол работает синергично, выводя радикалы из легкоокисляемой липидной фазы в водную [6].

Способность глутатиона регенерировать наиболее важные антиоксиданты связана с окислительно-восстановительным состоянием пары глутатион дисульфид-глутатион (GSSG/2GSH). Поэтому сложная система антиоксидантной защиты препятствует развитию деструктивных свободнорадикальных процессов [30].

Нами показано, что при воздействии облучения на людей разных возрастов система глутатиона отвечает по-разному на действие излучения низкой мощности в малых и больших дозах (индивидуальные исследования). Эффекты в области малых доз могут превышать эффекты больших доз. Так, в популяции людей, подвергшихся воздействию радиации низкой интенсивности в малой дозе (до 20 сЗв), повышается содержание не только GSH в плазме крови, но и GSSG. В результате нарушения регуляторных связей в процессах, протекающих с участием свободных радикалов, наблюдается разный ответ системы глутатиона на действие радиации низкой мощности в малых (до 20 сЗв) и больших дозах (свыше 20 сЗв) в отдаленные сроки после облучения [2, 3, 31].

Существенное увеличение уровня GSH показано в группе животных, подвергшихся облучению в низких дозах (0.02 и 0.2 Гр) по сравнению с необлученными особями. Разные уровни генерации реактивных форм кислорода при низкой (0.02 и 0.2 Гр) и высокой дозе (2 Гр) могут быть обусловлены разными уровнями GSH у животных, подвергшихся воздействию радиации с низкой мощностью дозы. Авторы предположили, что путь *de novo* синтеза GSH, а не цикл его регенерации, может, в основном, включаться в ответ на стимуляцию организма длительным облучением в низких дозах [32].

Изменение соотношений восстановленной и окисленной формы глутатиона в разной степени позволяет, с одной стороны, сохранить ТДО на контрольном уровне, либо увеличить или снизить этот показатель. Снижение ТДО в результате увеличения содержания GSSG и истощения GSH в

плазме крови у ликвидаторов аварии с увеличением дозы радиационного воздействия (от 30 до 150 сЗв) указывает на наличие окислительного стресса [1–3].

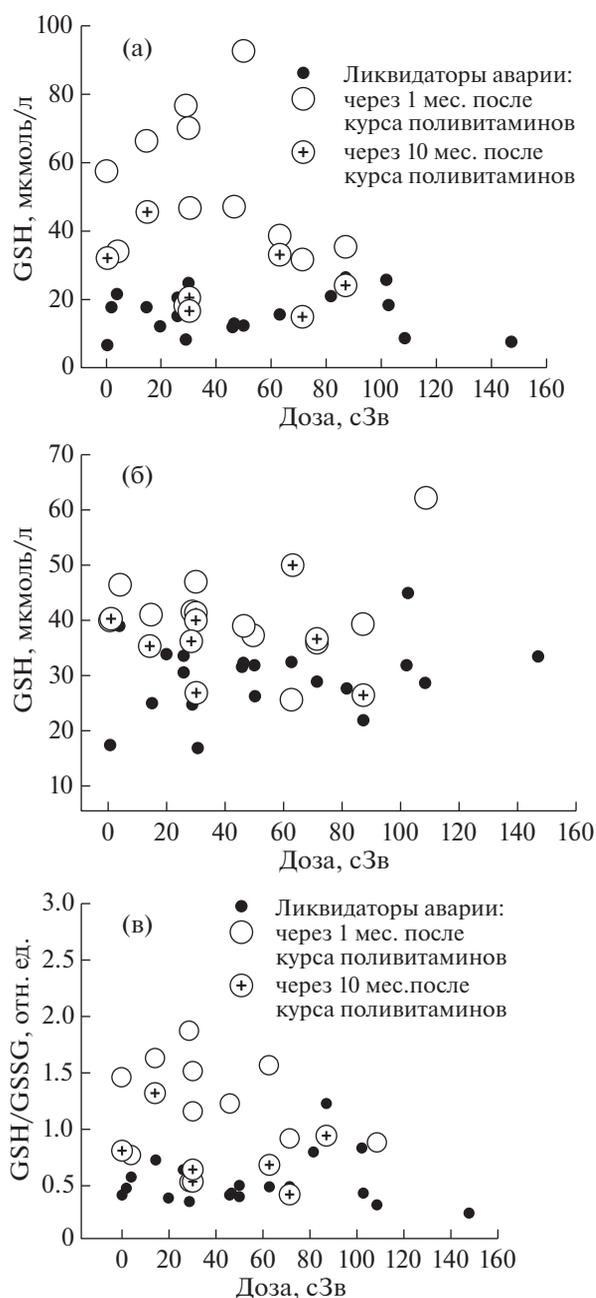
При применении поливитаминового комплекса, по-видимому, ответ системы глутатиона в плазме крови у ликвидаторов аварии при облучении в низких дозах выражен сильнее, чем при высоких дозах. Так, в диапазоне дозовых нагрузок от 2 до 50 сЗв через 1 мес. после приема препарата обнаружено явное увеличение содержания GSH, GSSG и ТДО в плазме крови в (рис. 2, а–в). С повышением дозы радиационного воздействия (свыше 50 и до 150 сЗв) содержание GSH в плазме крови и ТДО у ликвидаторов аварии снижается как в ранние, так поздние сроки после курса поливитаминов (рис. 2, а, в). Уровень GSSG в плазме крови у ликвидаторов сохраняется на высоком уровне во всем интервале дозовых нагрузок (0.2–150 сЗв) и через 1 и 10 мес. после приема поливитаминов (рис. 2, б).

С одной стороны, важным критерием неспецифической резистентности организма являются соотношение восстановленных и окисленных групп глутатиона и их способность к окислительной модификации (буферная емкость). Количественное изменение (увеличение) редокс-состояния в биологических жидкостях и клетках может привести к увеличению резистентности организма [5].

С другой стороны, внутриклеточное окислительно-восстановительное состояние, в том числе уровень GSH и GSSG, а также отношение восстановленной и окисленной форм глутатиона в клетке является одним из важнейших параметров, который показывает уровень окислительного стресса [33]. Поэтому регулирование окислительно-восстановительного состояния внутриклеточным GSH чрезвычайно важно для поддержания клеточных функций при физиологических и патологических состояниях.

Окислительный стресс часто определяется как дисбаланс прооксидантов и антиоксидантов, который у людей может быть определен количественно как окислительно-восстановительное состояние GSH/GSSG в плазме. По мнению исследователей, окислительный стресс лучше определять как нарушение окислительно-восстановительной передачи сигналов и ее контроля. Это может перенаправить исследования на выявление ключевых нарушений окислительно-восстановительной сигнализации и контроля этого процесса, а значит привести к новым методам лечения патологических процессов, связанных с окислительным стрессом [33].]

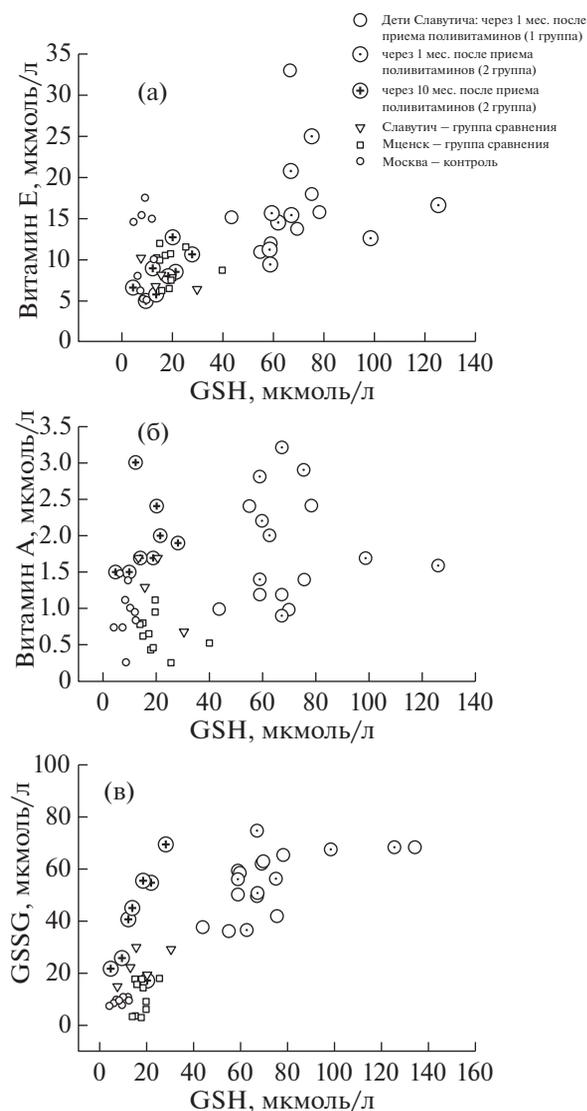
Известно, что риски, связанные с воздействием хронического облучения в малых дозах, более выражены у молодых пациентов. Об этом свиде-



**Рис. 2.** Изменение содержания GSH (а), GSSG (б) и тиолдисульфидного отношения (в) в плазме крови у ликвидаторов аварии в зависимости от дозы радиационного воздействия через 1 и 10 мес. после пероральной терапии поливитаминами.

**Fig. 2.** Changes in the content of GSH (a), GSSG (b) and thiol disulfide ratio (c) in the blood plasma of accident liquidators depending on the dose of radiation exposure 1 and 10 months after oral multivitamin therapy.

тельствует рост числа лейкозов и солидных опухолей среди детей, переживших ядерные бомбардировки Хиросимы и Нагасаки, по сравнению с теми, кто подвергся такому же радиационному воздействию в старшем возрасте [15].



**Рис. 3.** Зависимость между содержанием GSH и витамином E (а), витамином A (б), GSSG (в) в плазме крови у детей, проживающих на загрязненной радионуклидами территории в результате аварии на ЧАЭС, через 1 и 10 мес. после применения поливитаминового комплекса.

**Fig. 3.** Relationship between the content of GSH and vitamin E (a), vitamin A (b) and GSSG (c) in the blood plasma of children living in the territory contaminated with radionuclides as a result of the Chernobyl accident, 1 and 10 months after the use of the multivitamin complex.

Мы изучили влияние поливитаминов на статус глутатиона и витамина E в плазме крови у детей на фоне воздействия экстремальных факторов внешней среды в результате аварии на Чернобыльской АЭС. На рис. 3, а–в представлены индивидуальные данные оценки зависимости между уровнями GSH и витаминов E, A, GSSG в плазме крови у детей через 1 и 10 мес. после приема поливитаминов. Несмотря на небольшую вы-

борку обследованных лиц, обнаружены сложные зависимости между тиолдисульфидной системой и липидными антиоксидантами в плазме крови у детей после витаминотерапии. Выявлен разный масштаб увеличения содержания GSH (40–120 мкмоль/л) и витамина E (10–30 мкмоль/л) в плазме крови через 1 мес. после приема препарата. Так, если уровень витамина E повышается в 2 раза в пределах своего ограниченного диапазона относительно контрольных значений (5–15 мкмоль/л), то содержание глутатиона в плазме крови у детей в 4 раза превышает концентрации незаменимого липидного антиоксиданта – витамина E (рис. 3, а).

Наиболее сложная зависимость наблюдается между GSH и витамином A в плазме крови у облученных детей через 1 мес. после витаминотерапии. Трехкратному увеличению содержания GSH (диапазон от 40 до 120 мкмоль/л) соответствуют два разных уровня витамина A, а именно: низкое его содержание (диапазон от 0.5 до 1.5 мкмоль) и высокая концентрация в плазме крови (диапазон от 2.0 до 3.2 мкмоль/л) (рис. 3, б). Через 10 мес. после приема поливитаминового комплекса содержание GSH и витамина E в плазме крови у детей снижается до контрольных значений (рис. 3, а). Однако повышенные уровни витамина A и GSSG в плазме крови у детей все еще сохраняются и в отдаленный период (рис. 3, б, в).

При метаболических процессах в организме образуются свободные радикалы, концентрация которых увеличивается при загрязнении окружающей среды радионуклидами. Наличие окислительного стресса в группе детей, проживающих в регионах с повышенным радиационным фоном, подтверждается увеличением содержания GSSG, снижением ТДО и повышением уровня витамина A в плазме крови (рис. 3, б, в). Отмечают стимулирующее влияние витамина A в высоких дозах на процессы канцерогенеза и рост опухолей в некоторых экспериментальных системах [34].

Так как ликвидаторы аварии на ЧАЭС и дети, проживающие в загрязненных районах, подверглись воздействию ионизирующих излучений в малых дозах, то для минимизации негативных эффектов облучения применяли поливитамины – жизненно важные питательные пищевые вещества с разнообразными биохимическими свойствами, необходимыми для поддержания здоровья.

Антиоксиданты получили очень широкое признание как нутрицевтические ингредиенты диеты. Употребление диеты или добавок, богатых низкомолекулярными АО, может помочь в профилактике различных заболеваний. Большинство низкомолекулярных антиоксидантов полезны в пределах своего ограниченного диапазона, но они могут проявлять и прооксидантные свой-

ства в результате их избыточного потребления, увеличивая в дальнейшем производство оксидантов.

Одним из возможных ограничений антиоксидантной терапии является то, что выраженные нарушения функционирования клеток и даже их гибель могут наступить к тому времени, когда явная симптоматика заболевания станет очевидной. Поэтому важно начать терапию, направленную против окислительного стресса на ранней стадии развития болезни. Следует регулярно проверять уровни антиоксидантов, чтобы узнать их дефицит или избыточный статус. Необходимо подчеркнуть, что витамины не являются лекарственными средствами, а квалифицируются как незаменимые пищевые ингредиенты, необходимые организму для поддержания жизненных функций, но которые организм не в состоянии синтезировать или синтезирует в недостаточных количествах. Поэтому человек должен получать их в готовом виде с пищей, но если в обычной пище таких веществ не хватает, то необходимо использовать специальные добавки [21–23, 34].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пероральное применение комбинированных поливитаминных препаратов ведет к ответной реакции гидрофобной и гидрофильной части антиоксидантной системы организма при воздействии радиации низкой интенсивности в результате аварии на Чернобыльской АЭС. В ранние сроки (через 1 мес.) после терапии поливитаминами у ликвидаторов аварии и детей – жителей радиационно-загрязненной территории – наблюдается нормализация содержания антиоксидантов в плазме крови, однако у части обследованных детей существенно повышен уровень GSSG и витамина А. В более поздние сроки (10 мес.) содержание GSH в плазме крови у ликвидаторов возвращается в исходное состояние облученного контроля (до приема витаминов). У детей через 10 мес. после терапии показатели окислительного стресса превышают нормальные значения, при этом уровень GSSG и витамина А у части обследованных индивидов остается резко повышенным, что свидетельствует о радиогенной этиологии выявленных патологий. Индивидуальная оценка взаимосвязанных биохимических параметров является необходимым условием для более глубокого изучения метаболических факторов, влияющих на риск заболевания людей, живущих в регионах с повышенным радиационным фоном.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Иваненко Г.Ф., Бурлакова Е.Б.* Ответ системы глутатиона на действие хронического облучения по-

пуляции людей после аварии на ЧАЭС // Изв. РАН. Сер. биол. 2005. № 1. С. 9–17. [*Ivanenko G.F., Burlakova E.B.* Response of the glutathione system to chronic irradiation of human population after the Chernobyl accident // *Izvestiya RAN. Biologicheskaya seriya* – RAS Biology Bulletin. 2005. V. 32. № 1. P. 4–11. (In Russ.)]

2. *Ivanenko G.F., Burlakova E.B.* Relationships between a thiol-disulfide system and liposoluble antioxidants with cytogenetic indices in humans exposed to low doses radiation // *Engineering*. 2013. V. 5. P. 62–67. <https://doi.org/10.4236/eng.2013.510B013>
3. *Иваненко Г.Ф., Бурлакова Е.Б.* Влияние ионизирующего излучения с низкой мощностью дозы на состояние тиолдисульфидной системы и липидных антиоксидантов в плазме крови // *Радиация и риск*. 2017. Т. 26. № 4. С. 111–123. [*Ivanenko G.F., Burlakova E.B.* The effect of low dose-rate radiation on thiol-disulfide system and lipid antioxidants in the blood plasma of exposed // *Radiatsiya i risk – Radiation and Risk*. 2017. V. 26. № 4. P. 111–123. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21870/0131-3878-2017-26-4-111-123>
4. *Бурлакова Е.Б., Иваненко Г.Ф., Шишкина Л.Н.* Вклад антиоксидантов и эндогенных тиолов в обеспечение радиорезистентности организма // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1985. № 4. С. 588–593. [*Burlakova E.B., Ivanenko G.F., Shishkina L.N.* The role of lipid antioxidant activity and thiol level in determination of organism radioresistance // *Izvestiya AS SSSR. Seriya Biologicheskaya*. 1985. V. 6. P. 682–688. (In Russ.)]
5. *Соколовский В.В.* Тиолдисульфидная система в реакции организма на факторы окружающей среды. СПб.: Наука, 2008. 112 с. [*Sokolovsky V.V.* Thiol-disulfide system in organism reaction to environmental factors. Sankt-Peterburg : Nauka, 2008. 112 p. (In Russ.)]
6. *Wayner D.D.M., Burton G.W., Ingold K.U. et al.* The relative contributions of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the peroxy radical-trapping antioxidant activity of human blood plasma // *Biochem. Biophys. Acta*. 1987. V. 924. P. 408–419.
7. *Valko M., Lejbfritz D., Moncol J. et al.* Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease // *Int. J. Biochem. Cell Biol*. 2007. V. 39. P. 44–84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
8. *Griffith O.W., Meister A.* Glutathione, interorgan translocation, turnover and metabolism // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1979. V. 76. P. 5606–5610.
9. *Lu S.C.* Glutathione synthesis // *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj*. 2013. V. 1830. P. 3143–3153. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.09.008>
10. *Witschi A., Reddy S., Stofer B., Lauterburg B.H.* The systemic availability of oral glutathione // *Eur. J. Clin. Pharmacol*. 1992. V. 43. P. 667–669.
11. *Buonocore D., Grosini M., Giardina S.* Bioavailability study of an innovative orobuccal formulation of gluta-

- thione // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016. V. 2. P. 1–7. <https://doi.org/10.1155/2016/3286365>
12. *Horowitz R.I., Freeman P.R., Bruzzese J.* Efficacy of glutathione therapy in relieving dyspnea associated with COVID-19 pneumonia: A report of 2 cases // *Respir. Med. Case Rep.* 2020. V. 30. P. 101063. <https://doi.org/10.1016/j.rmcr.2020.101063>
13. *Doll R., Wakeford R.* Risk of childhood cancer from fetal irradiation // *Br. J. Radiol.* 1977. V. 70. P. 130–139.
14. *Gilbert E.S.* Ionizing radiation and cancer risks: what have we learned from epidemiology? // *Int. J. Radiat. Biol.* 2009. V. 85. № 6. P. 467–482. <https://doi.org/10.1080/09553000902883836>
15. *Ozasa K., Shimizu Y., Suyama A. et al.* Studies of the mortality of atomic bomb survivors, report 14, 1950–2003: an overview of cancer and noncancer diseases // *Radiat. Res.* 2012. V. 177. № 3. P. 229–243. <https://doi.org/10.1667/RR2629.1>
16. *Xiao L., Tsutsui T., Miwa N.* The lipophilic vitamin C derivative, 6-o-palmitoylascorbate, protects human lymphocytes, preferentially over ascorbate, against X-ray-induced DNA damage, lipid peroxidation and protein carbonylation // *Mol. Cell Biochem.* 2014. V. 394. № 1–2. P. 247–259. <https://doi.org/10.1007/s11010-014-2101-8>
17. *Prasad K.N.* Rationale for using multiple antioxidants in protecting humans against low doses of ionizing radiation // *Br. J. Radiol.* 2005. V. 78. № 930. P. 485–492. <https://doi.org/10.1259/bjr/87552880>
18. *Singh P.K., Krishnan S.* Vitamin E Analogs as radiation response modifiers evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM // 2015. № 4. <https://doi.org/10.1155/2015/741301>
19. *Citrin D., Cotrim A.P., Hyodo F. et al.* Radioprotectors and mitigators of radiation-induced normal tissue injury // *Oncologist.* 2010. V. 15. № 4. P. 360–371. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2009-S104>
20. *Kumar S.* The importance of antioxidant and their role in pharmaceutical science – a review // *As. J. Res. Chem. Pharm. Sci.* 2014. V. 1. № 1. P. 27–44.
21. *Lamichhane A., Chaudhary V., Sah N.K. et al.* Low Molecular Weight Antioxidants (lmwa) and their Orchestration // *Nepal J. Med. Sci.* 2013. V. 2. № 2. P. 171–80. <https://doi.org/10.3126/njms.v2i2.8971>
22. *Di M.P., Murphy M.E., Sies H.* Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols // *Am. J. Clin. Nutr.* 1991. V. 53. P. 194–200.
23. *Воскресенский О.Н., Жутаев И.А., Бобырев В.Н., Безуглый Ю.В.* Антиоксидантная система, онтогенез и старение (обзор) // *Вопр. мед. химии.* 1982. Т. 28. № 1. С. 14–27. [*Voskresenskij O.N., Zhutaev I.A., Bobyrev V.N., Bezuglyj Yu.V.* Antioksidantnaya sistema, ontogenez i starenie (obzor) // *Voprosy medicinskoj himii.* 1982. V. 28. № 1. P. 14–27 (In Russ.)]
24. *Wattenberg L.W.* Chemoprevention of cancer // *Cancer Res.* 1985. V. 45. P. 1–8.
25. *Тарасенко Л.В., Бездробная Л.К., Бухал А.В. и др.* Цитогенетические эффекты в лимфоцитах периферической крови жителей г. Славутич, не имеющих профессионального контакта с ионизирующим излучением // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2004. Т. 44. № 6. С. 632–636. [*Tarascenko L.V., Bezdrobna L.K., Bukhal A.V. et al.* Cytogenetic effects in blood lymphocytes of Slavutich residents having no occupational contact with ionizing radiation // *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya – Radiation biology. Radioecology.* 2004. V. 44. № 6. P. 632–636 (In Russ.)]
26. *Ellman G.L., Lysko H.* Disulfide and sulfhydryl compounds in TCA extracts of human blood and plasma // *Lab. Clin. Med.* 1967. V. 70. P. 518–527.
27. *McNeil T.L., Beck L.Y.* Fluorometric estimation of GSH-OPT // *Anal. Biochem.* 1968. V. 22. P. 431–441.
28. *Hansen L.G., Warwick W.G.A.* Fluorometric micro-method for serum vitamins A and E // *Tech. Bull. Reg. Med. Technol.* 1969. V. 39. № 3. P. 70–73.
29. *Puthran S.S., Sudha K., Rao G.M., Shetty B.V.* Oxidative stress and low dose ionizing radiation // *Ind. J. Physiol. Pharmacol.* 2009. V. 53. № 2. P. 181–184.
30. *Pastore A., Federici G., Bertini E., Piemonte F.* Analysis of glutathione: Implication in redox and detoxification // *Clin. Chim. Acta.* 2003. V. 333. P. 19–39. [https://doi.org/10.1016/s0009-8981\(03\)00200-6](https://doi.org/10.1016/s0009-8981(03)00200-6)
31. *Иваненко Г.Ф.* Отдаленные биохимико-цитогенетические изменения в плазме и лимфоцитах периферической крови у людей при действии радиации низкой интенсивности в результате аварии на Чернобыльской АЭС // *Биофизика.* 2019. 36. № 6. С. 1124–1133. [*Ivanenko G.F.* Late biochemical and cytogenetic changes in plasma and peripheral blood lymphocytes in people exposed to low-dose radiation as a result of the accident at the Chernobyl nuclear power plant // *Biophysics.* 2019. V. 64. № 6. P. 917–925 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.1134/S000635091906001>
32. *Lee E.K., Kim J.A., Kim J.S. et al.* Activation of de novo GSH synthesis pathway in mouse spleen after long term low-dose  $\gamma$ -ray irradiation // *Free Radic. Res.* 2013. V. 47. № 2. P. 89–94. <https://doi.org/10.3109/10715762.2012.747678>
33. *Jones D.P.* Redefining oxidative stress // *Antioxidants and Redox Signaling.* 2006. V. 8. № 9–10. P. 1865–1879. <https://doi.org/10.1089/ars.2006.8.1865>
34. *Заридзе Д.Г., Букин Ю.Б.* Эпидемиологические вопросы витаминотерапии рака // *Вопр. онкологии.* 1990. Т. 36. № 6. С. 643–652. [*Zaridze D.G., Bukin Yu.B.* Epidemiologicheskie voprosy vitaminoterapii raka // *Voprosy onkologii.* 1990. V. 36. № 6. P. 643–652 (In Russ.)]

## The Effect of Multivitamins on the Content of Glutathione and Lipid Antioxidants in Blood Plasma in People Exposed to Low-intensity Radiation

G. F. Ivanenko<sup>a,#</sup>

<sup>a</sup> *N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academie of Sciences, Moscow, Russia*

<sup>#</sup> *E-mail: galiv03@rambler.ru*

A study was made of the effect of a multivitamin complex on the state of the redox system of glutathione (reduced form of GSH, oxidized form of GSSG) and lipid antioxidants (vitamins E and A) in the blood plasma of Chernobyl disaster liquidators who worked at different times in the accident zone, and children exposed to extreme environmental factors as a result of this radiation incident. Oral therapy with a combination drug, the action of which is due to the effects of vitamins, macro- and microelements included in its composition, leads to the normalization of the antioxidant system in the blood plasma in exposed individuals of the examined groups in the early stages (1–5 months) after its use. This protective reaction has a limitation, so after 10 months the effectiveness of therapy in the liquidators of the accident decreases due to the consumption of antioxidants in the blood plasma, as evidenced by the values of the considered indicators corresponding to the levels of irradiated control (before taking multivitamins). In a group of children living in a territory contaminated with radionuclides, an increase in GSSG and vitamin A in blood plasma was found 10 months after vitamin therapy. The results of a comprehensive assessment of individual deviations of biochemical parameters from the norm after multivitamin therapy in people exposed to low-intensity radiation indicate a radiogenic etiology of the identified pathologies. The use of vitamin preparations requires some caution and a deeper study of the mechanisms for implementing their therapeutic effects, aimed at reducing possible health risks associated with exposure to ionizing radiation in low doses.

**Keywords:** children, liquidators, blood plasma, ionizing radiation, vitamins, glutathione

---

---

## МОДИФИКАЦИЯ РАДИАЦИОННЫХ ЭФФЕКТОВ

---

---

УДК 576.5:616-08:612.014.482:539.1.047

### СОВРЕМЕННЫЕ КЛЕТОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КОСТНОМОЗГОВОЙ ФОРМЫ ОСТРОЙ ЛУЧЕВОЙ БОЛЕЗНИ

© 2022 г. Д. П. Белозеров<sup>1</sup>, Н. В. Варламова<sup>1,\*</sup>, П. К. Потапов<sup>1</sup>, О. А. Низовцева<sup>2</sup>, А. А. Эсибов<sup>1</sup>,  
Р. Р. Байкиев<sup>1</sup>, И. В. Маркин<sup>1</sup>, Е. А. Журбин<sup>1</sup>, М. Е. Финогентов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Военный инновационный Технополис “ЭРА”, Анапа, Россия

<sup>2</sup> Городская больница г. Анапы, Анапа, Россия

\*E-mail: era\_1@mil.ru

Поступила в редакцию 23.03.2022 г.

После доработки 24.06.2022 г.

Принята к публикации 29.06.2022 г.

Ядерные технологии за последние 50 лет стали частью нашей повседневной жизни. Угроза техногенного радиационного поражения и возрастающее число онкобольных, нуждающихся в радиотерапии, являются факторами, способствующими развитию новых подходов к лечению острой лучевой болезни. В статье обобщена информация по действию ионизирующего излучения на организм человека и проанализированы современные подходы к клеточной терапии. Рассмотрены биомедицинские клеточные препараты на основе стволовых клеток для восстановления системы гемопоэза. На данный момент в мире существует десять препаратов, содержащих МСК, и восемь препаратов, содержащих ГСК, которые одобрены государственными органами различных стран (Япония, Южная Корея и др.) для медицинского применения. Несмотря на то что терапевтический эффект стволовых клеток доказан клинически, существуют проблемы, которые предстоит решить для повышения эффективности лечения. К таким проблемам можно отнести эффективность ко-трансплантации ГСК и МСК, оптимальные порядок и время инъекций, дозировку обоих компонентов, а также снижение риска реакции отторжения трансплантата. Решение этих проблем позволит разработать новые и совершенствовать уже существующие методы регенерации тканевых повреждений, что позволит повысить продолжительность и качество жизни пациентов с острой лучевой болезнью.

**Ключевые слова:** ионизирующее излучение, острая лучевая болезнь, клеточная терапия, мезенхимальные стволовые клетки, гемопоэтические стволовые клетки

**DOI:** 10.31857/S0869803122050046

Ядерные технологии используются во многих отраслях — медицине, промышленности, сельском хозяйстве и вооруженных силах, поэтому утечки радиации неизбежны. В XX веке жертвами около 400 утечек радиации стали тысячи человек [1, 2]. Важными задачами по осуществлению комплекса мероприятий, направленных на нейтрализацию радиационных угроз и развитие ресурсного обеспечения функциональных элементов национальной системы радиационной безопасности, являются разработка и применение технологий диагностики, лечения и профилактики нарушений здоровья, связанных с негативным воздействием радиации [3]. Поражения радиацией возникают при авариях на атомных электростанциях, в результате применения ядерного оружия, вызывая повышенную частоту мутаций и онкологических заболеваний у профессионалов-атомщиков, ликвидаторов последствий ЧС и их детей [4–6]. Кроме этого, радиационные поражения

могут быть получены вследствие проведения радиотерапии у онкологических больных. Около половины пациентов с диагностированными злокачественными новообразованиями подвергаются радиационной терапии [7], от которой зависит успех в 40% случаев [8]. Помимо преимуществ, радиотерапия обладает и серьезными недостатками, в том числе вызывает радиационные повреждения облученных тканей [9].

Таким образом, вопрос о новых клеточных продуктах, используемых для лечения острой лучевой болезни (ОЛБ) и осложнений радиотерапии, крайне актуален для современной отечественной и мировой медицины.

#### СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ И СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ОСТРОЙ ЛУЧЕВОЙ БОЛЕЗНИ

Действие ионизирующего излучения (ИИ) на организм начинается с поглощения энергии из-

лучения тканями и проявляется на всех уровнях биологической организации: на уровне макромолекул, клеток, тканей, органов, целостного организма [10]. Повреждение ИИ проявляется в виде прямого и непрямого воздействия [11–20].

Выделяют четыре степени тяжести острой лучевой болезни [21]. При степени I тяжести возникают легкие радиационные поражения, не требующие интенсивной терапии. Пациенты со степенями II–IV тяжести нуждаются в специальных медицинских протоколах лечения [22].

Поскольку радиационное воздействие носит непредсказуемый характер, необходимо разрабатывать протоколы лечения людей, страдающих от уже наступившей лучевой болезни [23]. В проведенных исследованиях показано, что средняя смертельная доза облучения, от которой погибает 50% пациентов за 60 дней ( $LD_{50/60}$ ), составляет от 3 до 4 Гр. При назначении терапии, включающей противорвотные средства, внутривенную гидратацию, анальгетики, антибиотики и переливание крови,  $LD_{50/60}$ , по оценкам, находится в диапазоне между 6 и 7 Гр [24]. При более высоком уровне поглощенной дозы терапия ОЛБ является затруднительной, при этом выживаемость пациентов приближается к нулю [21]. С целью коррекции нарушений функций органов и систем при поражении ИИ используются мероприятия, направленные на:

- восстановление кроветворения (трансплантация костного мозга);
- борьбу с инфекцией, интоксикацией, геморрагическими явлениями;
- восстановление функций нервной, эндокринной, пищеварительной, сердечно-сосудистой и др. систем;
- стимуляцию клеточных восстановительных процессов;
- снижение интенсивности окислительных процессов;
- уменьшение интенсивности перекисного окисления липидов;
- улучшение тканевого дыхания;
- стабилизацию клеточных мембран;
- гашение цепных радиационно-химических реакций;
- ликвидацию иммунодефицита;
- стимуляцию репарации поврежденного хромосомного аппарата [22].

### КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ ОСТРОЙ ЛУЧЕВОЙ БОЛЕЗНИ

Костный мозг состоит из сложной и гетерогенной смеси различных типов клеток. В его состав входят взаимодействующие строма и кроветворная система. Кроветворная система включает в

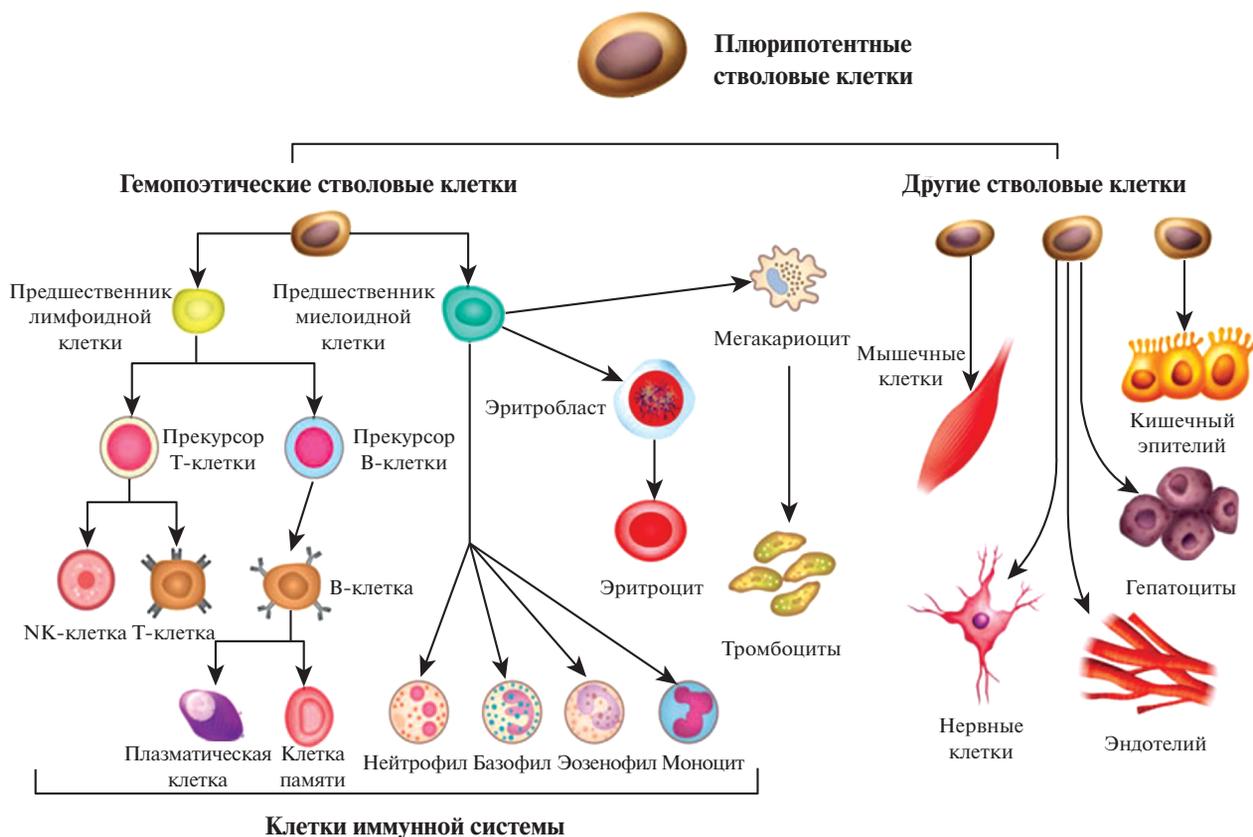
себя кроветворные (гемопоэтические) стволовые и прогениторные клетки (клетки-предшественники), которые дают начало различным клеткам крови и иммунной системы. Строма костного мозга содержит мезенхимальные стволовые клетки (МСК) и мультипотентные взрослые клетки-предшественники [25]. Во взрослом организме стволовые клетки являются одним из механизмов восстановления и обновления определенных клеток и тканей на протяжении всей жизни человека (рис. 1). Отличие стволовых клеток от всех остальных клеток организма состоит в том, что они могут делиться неограниченно [26].

Стратегия терапии стволовыми клетками заключается в трансплантации неманипулированных стволовых клеток и *ex vivo* культивированных клеток-предшественников [28]. Неманипулированные клетки – клеточные системы человека и животных, которые в результате выделения, очистки, обработки, стандартизации, сертификации, криоконсервации и хранения не подвергаются процессам модификации генома, культивированию или длительному (более 12 ч) инкубированию полученных клеток с химическими веществами или лекарственными препаратами, а также клетки, в результате манипуляций с которыми остаются неизменными нативные (природные) генетические и постгеномные характеристики транскриптома, протеома, метаболома и секретома этих клеток [29, 30]. Параллельно развиваются стратегии клеточной терапии, базирующиеся на использовании индуцированных плюрипотентных стволовых клеток [31, 32].

Большинство гемопоэтических клеток-предшественников находятся в костном мозге, поэтому костный мозг является традиционным источником этих клеток для трансплантации [25]. В течение долгого времени клетки-предшественники получали методом прямой аспирации костного мозга, проводившейся под общим наркозом, откуда и произошел термин “трансплантация костного мозга” [33]. Однако было обнаружено, что гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) могут быть получены из периферической крови, хотя и в меньших количествах.

Процедура мобилизации и сбора стволовых клеток периферической крови имеет очень низкий уровень осложнений. Трансплантат, полученный таким методом, дает более быстрое (по сравнению с костным мозгом) приживление и восстановление кроветворения, а при аутологичной трансплантации – более низкий уровень контаминации опухолевыми клетками [34].

Существуют эффективные подходы к терапии острой лучевой болезни с помощью ГСК [12]. При IV (крайне тяжелой) степени (доза облучения >6 Гр) и некоторых случаях III (тяжелой) степени (доза облучения 4–6 Гр) острой лучевой бо-



**Рис. 1.** Стволовые клетки и их дифференцировка [27].  
**Fig. 1.** Stem cells and their differentiation [27].

лезни в течение первых 3–5 сут после облучения (т.е. в условиях ранней лимфопении) может быть проведена трансплантация аллогенных или аутологичных гемопоэтических стволовых клеток [22]. Однако применение аутологичных ГСК не всегда представляется возможным, например, у пациентов, которые проходят миелоабляционную лучевую терапию. При этом использование аллогенных ГСК может иметь серьезные побочные эффекты, такие как реакция гиперчувствительности, реакция “трансплантат против хозяина” (РТПХ), отторжение трансплантированных клеток. Поэтому перед введением аллогенных ГСК все пациенты должны получать иммуносупрессивные препараты для снижения риска побочных реакций [35, 36].

При недостатке ресурсов и донорских клеток альтернативой может стать трансплантация мезенхимальных стволовых клеток (МСК) в отсутствие гемопоэтических стволовых клеток [37, 38]. Мезенхимальные стволовые клетки становятся все более популярным объектом исследований, в частности, для лечения реакции “трансплантат против хозяина”, болезни Крона, инфаркта миокарда и др. Источниками МСК являются различ-

ные органы и ткани: костный мозг, пуповинная кровь, пупочный канатик (Вартонов студень), плацента, адипозная ткань и т.д. [39]. Терапевтический эффект МСК заключается в том, что они не восстанавливают систему кроветворения, а способствуют спасению гемопоэтических стволовых клеток, регенерации клеток желудочно-кишечного тракта, кожи и снимают другие симптомы. ОЛБ [40]. Противовоспалительные, регенеративные и способствующие гемопоэзу свойства МСК делают их хорошим дополнением к существующим лекарственным препаратам, применяемым при лечении ОЛБ. В исследованиях *in vitro* и *in vivo* показано, что добавление МСК к стандартному медицинскому протоколу ускоряет восстановление гемопоэтической системы за счет секреции гемопоэтических цитокинов [41]. Введение МСК оказывает положительное влияние при терапии таких пациентов с ОЛБ, которым не помогают стандартные методы лечения [42, 43].

При высокой полученной дозе радиации следует учитывать необходимость трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, а мезенхимальные стволовые клетки рассматривать как дополнительный компонент при терапии ОЛБ [44].



**Рис. 2.** Внешний вид клеточного продукта “Nemacord” [53].  
**Fig. 2.** Appearance of the cell product “Nemacord” [53].

Доклинические исследования на животных подтвердили, что ко-трансплантация ГСК и МСК положительно влияет на функции кроветворения, облегчая приживание трансплантированных гемопоэтических клеток и системы гемопоэза [45, 46]. Более того, при ко-трансплантации МСК повышается шанс успешного приживания ГСК и снижается риск возникновения РТПХ и отторжения трансплантата [47, 48].

Очевидно, что разработка клинических протоколов совместной трансплантации гемопоэтических и мезенхимальных стволовых клеток имеет огромный потенциал, и на сегодняшний день на рынке уже существует ряд биомедицинских клеточных продуктов для восстановления системы гемопоэза [49]. Из существующих в мире десятки препаратов, содержащих МСК, и восьми препаратов, содержащих ГСК [50, 51], далее будут рассмотрены наиболее перспективные препараты, используемые для лечения пациентов с ОЛБ.

#### КЛЕТОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ НА ОСНОВЕ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Инновационный препарат “Nemacord”, произведенный в Нью-Йоркском центре крови, США (рис. 2), состоит из гемопоэтических клеток-предшественников, моноцитов, лимфоцитов и гранулоцитов, получаемых из пуповинной крови. Стволовые клетки из пуповинной крови получают от неродственных доноров [52].

Представленный клеточный продукт на основе стволовых клеток из пуповинной крови человека является первым биомедицинским клеточным продуктом, на который “Агентство по контролю за медикаментами и пищевыми добавками” (“Food and

Drug Administration”, FDA) США выдала лицензию. “Nemacord” сертифицирован для лечения наследственных и приобретенных заболеваний кроветворной системы, включая определенные виды рака крови и аутоиммунные заболевания. Аллогенный трансплантат также может производить эффект, который был назван “трансплантат против опухоли” (ТПО). Иммунокомпетентные Т-лимфоциты, образующиеся из донорских ГСК, реагируют против опухолевых клеток реципиента, таким образом, уничтожая оставшиеся метастатические очаги [54]. Показано, что за счет содержания гемопоэтических стволовых клеток такие препараты могут быть эффективны при терапии болезни Ходжкина [55, 56], неходжкинской лимфомы [57], талассемии [58], множественной миеломы [59], тяжелой апластической анемии [60], хронического миелоидного лейкоза [61], а также тяжелого врожденного иммунодефицита [62].

Биомедицинский клеточный продукт “Ducord”, созданный в Медицинском центре Университета Дьюка (Дарем, США) из аллогенных гемопоэтических стволовых клеток и стволовых клеток-предшественников пуповинной крови, предназначен для клеточной терапии пациентов с наследственными и приобретенными заболеваниями кроветворной системы. “Ducord” можно использовать в сочетании с другими лекарственными препаратами для восстановления функций гемопоэтической и иммунной систем [52, 63].

Биомедицинский клеточный продукт “Allocord” производства Детской больницы кардинала Гленнона (США) имеет в составе гемопоэтические клетки-предшественники, моноциты, лимфоциты и гранулоциты пуповинной крови. Действующим компонентом являются гемопоэ-

тические клетки-предшественники, которые экспрессируют маркер клеточной поверхности CD34+. Рекомендуемая минимальная доза составляет  $2.5 \times 10^7$  кл./кг. Перед трансплантацией необходимо провести HLA-генотипирование реципиента. Требуется совпадение, по крайней мере, четырех из шести аллелей антигенов HLA-A, HLA-B и HLA-DRB1. Также необходимо выполнить тестирование на антитела к HLA для выявления пациентов с аллоиммунизацией. Количество ядросодержащих и CD34+ клеток, группа крови ABO и HLA-генотип приводятся в сопроводительной документации к индивидуальному пакету [54].

Препарат вводится пациентам с наследственными и приобретенными гематологическими заболеваниями внутривенно. Он предназначен для аллогенной трансплантации и его можно использовать в сочетании с другими лекарственными препаратами для восстановления функций гемопоэтической и иммунной систем. Терапевтический эффект достигается за счет привлечения трансплантированных клеток-предшественников ГСК в костный мозг, их последующего созревания и миграции к очагу повреждения [39, 52, 63].

Инновационный препарат “Clevacord”, произведенный в Донорском центре крови в Уорренсвилл-Хайтс (США), состоит из гемопоэтических клеток-предшественников, моноцитов, лимфоцитов и гранулоцитов из пуповинной крови человека [52, 65]. Активным ингредиентом являются гемопоэтические клетки-предшественники, которые экспрессируют маркер клеточной поверхности CD34+. Эффективность пуповинной крови определяется путем измерения общего количества ядросодержащих клеток, CD34+ клеток, а также жизнеспособности клеток [66]. Каждая единица “Clevacord” содержит минимум  $5 \times 10^8$  ядросодержащих клеток с не менее, чем  $1.25 \times 10^6$  жизнеспособных CD34+ клеток. “Clevacord” показан для использования в процедурах трансплантации неродственных донорских гемопоэтических стволовых клеток-предшественников в сочетании с соответствующим режимом подготовки для восстановления гемопоэтических и иммунологических нарушений у пациентов с заболеваниями, влияющими на систему кроветворения, которые являются наследственными, приобретенными или возникшими в результате миелоабляционной терапии [65].

#### КЛЕТОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ НА ОСНОВЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Биомедицинский клеточный продукт “Гема-Комб”, разработанный в Российской Федерации, может быть использован для восстановительного

и реабилитационного лечения онкологических больных после проведения радио- и химиотерапии (хирургических циторедуктивных операций, стереотаксической радиохирургии и т.д.).

Препарат состоит из двух компонентов. Компонент А содержит линию аутологичных или иммуносовместимых аллогенных мезенхимальных стволовых клеток (МСК) с маркерами CD10+, CD13+, CD44+, CD90+ (Thy-1), CD105+, CD34-, CD45- и CD117- и мезенхимальных клеток-предшественников с маркерами CD10+, CD13+, CD44-, CD90+ (Thy1), CD105+, CD34+, CD45+ и CD117+, выделенных из нативного костного мозга или жировой ткани и культивированных *in vitro* в среде, способствующей мезенхимальной дифференцировке. Компонент Б содержит неманипулированные аутологичные или аллогенные мобилизованные мононуклеарные клетки, выделенные из лейкоконцентрата периферической крови, очищенные от плазмы крови, эритроцитов и гранулоцитов [67].

При парентеральном введении препарата (внутривенно, интратекально, интравентрикулярно, внутриартериально) в организм пациента МСК мигрируют в зону поврежденных органов и тканей в виде мультиклеточного мононуклеарного кластера, независимо от этиопатогенеза заболевания: опухоль, ишемия, травма, атрофия, дегенерация и т.д.

Клеточный продукт направлен на регенерацию клеток поврежденной ткани организма онкологического больного, полученных в результате различных типов токсичности после лучевой терапии, а также имеет достоинства, не имеющиеся у американских клеточных продуктов применительно к терапии ОЛБ.

Во-первых, МСК, применяемые в предложенном клеточном продукте, находятся в привычном тканеспецифичном микроокружении клеток костномозговой ниши, что значительно повышает их эффективность и биологическую активность [68, 69].

Во-вторых, трансплантированные клетки лейкоконцентрата мобилизованных мононуклеарных клеток формируют кластеры ГСК и гемопоэтических клеток-предшественников в ткани поврежденного органа, что позволяет многократно повысить выживаемость стволовых клеток и добиться более эффективной миграции этих клеток в зону максимального повреждения [70].

Препарат “Temcell” представляет собой продукт аллогенных мезенхимальных стволовых клеток, используемый для лечения острого лучевого поражения, реакции “трансплантат против хозяина” у пациентов любого возраста. Как и другие продукты, является криоконсервированным, по-

лученным из костного мозга взрослого человека. Полностью одобрен Министерством здравоохранения, труда и социального обеспечения Японии в сентябре 2015 г. как один из первых продуктов на основе клеток и тканей и внесен в список национального медицинского страхования, но в России данный препарат не входит в утвержденные стандарты лечения пациентов с ОЛБ [71].

Согласно инструкции-вкладышу, “Temcell” можно вводить внутривенно пациентам с острой РТПХ в дозе  $2 \times 10^6$  кл./кг, дважды в неделю в течение 4 нед подряд, с инфузиями с интервалом не менее 3 дней, и можно дополнительно вводить в дозе  $2 \times 10^6$  кл./кг один раз в неделю в течение последующих 4 нед подряд. Однако фактическое количество клеток, частота инфузий и время начала терапии МСК остаются на усмотрение врачей [72].

Стоит отметить преимущество препаратов на основе ГСК и МСК перед стандартной химиотерапией. Оно заключается в комбинированном эффекте миелоаблативной дозы химио- или радиотерапии в предтрансплантационном периоде и в способности иммунокомпетентных аллогенных донорских Т-лимфоцитов элиминировать остаточные опухолевые клетки в результате эффекта ТПО [73].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вне зависимости от характера и этиологии радиационных поражений существует потребность в разработке клеточных продуктов для лечения ОЛБ у военнослужащих и гражданского населения.

В настоящее время клеточная терапия костномозговой формы ОЛБ основывается на применении гемопоэтических и мезенхимальных стволовых клеток. Однако существует ряд проблем, основными из которых являются: эффективность ко-трансплантации ГСК и МСК, оптимальные порядок и время инъекций, дозировка обоих компонентов, а также снижение риска реакции отторжения трансплантата. Открытым остается вопрос об увеличении количества трансплантируемых клеток для повышения эффективности терапии, в особенности, когда она проводится несвоевременно [74, 75].

Вероятно, дальнейшее изучение функций тканей и органов может вызвать эффект синергизма при разработке клеточных продуктов на основе ГСК и МСК. Таким образом, применение биомедицинских клеточных препаратов на основе стволовых клеток имеет терапевтический потенциал и может продлить жизнь пациентов с ОЛБ.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Dainiak N., Ricks R.C.* The evolving role of haematopoietic cell transplantation in radiation injury: potentials and limitations // *Br. J. Radiol.* 2005. № 1. P. 169–174.  
<https://doi.org/10.1259/bjr/31003240>
2. *Coeytaux K., Bey E., Christensen D. et al.* Reported radiation overexposure accidents worldwide, 1980–2013: a systematic review // *PloS One.* 2015. 10. № 3. P. e0118709.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118709>
3. *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. [*Гребенюк А.Н., Гладких В.Д.* Modern condition and prospects for development of medicines for prevention and early treatment of radiation injures // *Radiacionnaya biologiya. Radiojokologiya.* 2019. V. 59. № 2. P. 132–149. (In Russ.)]  
<https://doi.org/10.1134/S0869803119020085>
4. *Шайхаев Г.О., Кузьмина Н.С., Мязин А.Е. и др.* Изучение частоты мутаций в мини-и микросателлитных локусах ДНК в клетках членов семей работников атомной промышленности, работавших с тритием и его окисью // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2008. Т. 48. № 6. С. 690–697. [*Shajhaev G.O., Kuz'mina N.S., Mjazin A.E. i dr.* Izuchenie chastoty mutacij v mini-i mikrosatelitnyh lokusah DNK v kletkah chlenov semej rabotnikov atomnoj promyshlennosti, rabotavshih s tritiem i ego okis'ju // *Radiacionnaya biologiya. Radiojokologiya.* 2008. V. 48. № 6. P. 690–697. (In Russ.)]
5. *Ярцева А.А., Мороз Б.Т., Гребенюк А.Н. и др.* Эффективность моликсана как средства коррекции негативных проявлений химиолучевой терапии у больных раком орофарингеальной области // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2014. Т. 54. № 3. С. 265–272. [*Jarceva A.A., Moroz B.T., Grebenjuk A.N. i dr.* Jefeektivnost' moliksana kak sredstva korrekcii negativnyh proyavlenij himioluchevoj terapii u bol'nyh rakom orofaringeal'noj oblasti // *Radiacionnaya biologiya. Radiojokologiya.* 2014. V. 54. № 3. P. 265–272. (In Russ.)]  
<https://doi.org/10.7868/S0869803114030175>
6. *Mettler Jr F.A., Gus'kova A.K., Gusev I.A.* Health effects in those with acute radiation sickness from the Chernobyl accident // *Health Phys.* 2007. V. 93. № 5. P. 462–469.  
<https://doi.org/10.1097/01.HP.0000278843.27969.74>
7. *Begg A.C., Stewart F.A., Vens C.* Strategies to improve radiotherapy with targeted drugs // *Nat. Rev. Cancer.* 2011. V. 11. № 4. P. 239–253.  
<https://doi.org/10.1038/nrc3007>
8. *Delaney G., Jacob S., Featherstone C. et al.* The role of radiotherapy in cancer treatment: estimating optimal utilization from a review of evidence-based clinical guidelines // *Cancer: Interdisciplinary International*

- Journal of the American Cancer Society. 2005. V. 104. № 6. P. 1129–1137.  
<https://doi.org/10.1002/cncr.21324>
9. *De Ruysscher D., Niedermann G., Burnet N.G. et al.* Radiotherapy toxicity // *Nat. Rev. Dis. Prim.* 2019. V. 5. № 1. P. 1–20.  
<https://doi.org/10.1038/s41572-019-0064-5>
  10. *Cerutti P.A.* Effects of ionizing radiation on mammalian cells // *Sci. Nat.* 1974. V. 61. № 2. P. 51–59.  
<https://doi.org/10.1007/BF00596195>
  11. *Ильин Л.А., Васин М.В., Гусев И.А. и др.* Радиационная медицина: Монография. М.: ИздатАТ, 2004. 992 с. [*Il'in L.A., Vasin M.V., Gusev I.A. i dr.* Radiacionnaya medicina: Monografiya. Moskva: IzdatAT, 2004. 992 p. (In Russ.)]
  12. *Qian L., Cen J.* Hematopoietic Stem Cells and Mesenchymal Stromal Cells in Acute Radiation Syndrome // *Oxidat. Med. Cell. Longev.* 2020. V. 2020. P. 143–149.  
<https://doi.org/10.1155/2020/8340756>
  13. *Santivasi W.L., Xia F.* Ionizing radiation-induced DNA damage, response, and repair // *Antioxidants & Redox Signaling.* 2014. V. 21. № 2. P. 251–259.  
<https://doi.org/10.1089/ars.2013.5668>
  14. *Ward J.F.* DNA damage produced by ionizing radiation in mammalian cells: identities, mechanisms of formation, and reparability // *Progr. Nucl. Acid Res. Molec. Biol.* 1988. V. 35. P. 95–125.  
[https://doi.org/10.1016/S0079-6603\(08\)60611-X](https://doi.org/10.1016/S0079-6603(08)60611-X)
  15. *Hayashi T., Morishita Y., Kubo Y. et al.* Long-term effects of radiation dose on inflammatory markers in atomic bomb // *Am. J. Med.* 2005. V. 118. № 1. P. 83–86.  
<https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2004.06.045>
  16. *Eriksson D., Stigbrand T.* Radiation-induced cell death mechanisms // *Tumor Biol.* 2010. V. 31. № 4. P. 363–372.  
<https://doi.org/10.1007/s13277-010-0042-8>
  17. *Golden E., Pellicciotta I., Demaria S. et al.* The convergence of radiation and immunogenic cell death signaling pathways // *Front. Oncol.* 2012. V. 2. P. 88.  
<https://doi.org/10.3389/fonc.2012.00088>
  18. *Ashrafizadeh M., Ahmadi Z., Mohammadinejad R. et al.* Monoterpenes modulating autophagy: A review study // *Basic & Clin. Pharmacol. & Toxicol.* 2020. V. 126. № 1. P. 9–20.  
<https://doi.org/10.1111/bcpt.13282>
  19. *Heylmann D., Ponath V., Kindler T. et al.* Comparison of DNA repair and radiosensitivity of different blood cell populations // *Sci. Rep.* 2021. V. 11. № 1. P. 1–13.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-81058-1>
  20. *Эмануэль В.Л., Ловицкий С.В.* Военно-полевая и военно-морская терапия (часть I: острая и хроническая лучевая болезнь): Учебное пособие. СПб.: Изд-во ПСПбГМУ им. И.П. Павлова, 2008. 36 с. [*Jemanujel' V.L., Lovickiy S.V.* Voенно-polevaya i voенно-morskaya terapiya (chast' I: ostraya i hronicheskaya lucheвая bolezn'): uchebное posobie. Sankt-Peterburg: Izd-vo PSPbGMU im. I.P. Pavlova, 2008. 36 p. (In Russ.)]
  21. *Garau M.M., Calduch A.L., López E.C. et al.* Radiobiology of the acute radiation syndrome // *Rep. Pract. Oncol. Radiother.* 2011. V. 16. № 4. P. 123–130.  
<https://doi.org/10.1016/j.rpor.2011.06.001>
  22. *Гуцол Л.О., Минакина Л.Н., Непомнящих С.Ф. и др.* Патогенез и основные принципы патогенетической терапии и профилактики пострadiационных повреждений: Учебное пособие. Иркутск: Изд-во ИГМУ, 2018. 68 с. [*Gucol L.O., Minakina L.N., Nepomnyashih S.F. i dr.* Patogenez i osnovnye principy patogeneticheskoj terapii i profilaktiki postradiacionnyh povrezhdenij: uchebное posobie. Irkutsk: Izd-vo IGMU, 2018. 68 p. (In Russ.)]
  23. *Легеца В.И., Гребенюк А.Н., Драчёв И.С.* Радиомитигаторы: классификация, фармакологические свойства, перспективы применения // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2019. Т. 59. № 2. С. 161–169. [*Legeza V.I., Grebenyuk A.N., Drachyov I.S.* Radiomitigators: classification, pharmacological properties and application prospects // *Radiacionnaya biologiya. Radioekologiya.* 2019. V. 59. № 2. P. 161–169. (In Russ.)]  
<https://doi.org/10.1134/S0869803119020097>
  24. *Eaton E.B., Varney T.R.* Mesenchymal stem cell therapy for acute radiation syndrome: innovative medical approaches in military medicine // *Milit. Med. Res.* 2015. V. 2. № 1. P. 1–9.  
<https://doi.org/10.1186/s40779-014-0027-9>
  25. *Bianco P., Riminucci M., Gronthos S. et al.* Bone marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential // *Stem Cells.* 2001. V. 19. № 3. P. 180–192.  
<https://doi.org/10.1634/stemcells.19-3-180>
  26. *Мезен Н.И., Квачева З.Б., Сычик Л.М.* Стволовые клетки: Учебное пособие. Минск: Изд-во БГМУ, 2014. 66 с. [*Mezen N.I., Kvacheva Z.B., Sychik L.M.* Stvolovye kletki: Uchebное posobie. Minsk: Izd-vo BGMU, 2014. 66 p. (In Russ.)]
  27. What Are Stem Cells? Available at: <https://www.stemcellimmuneregenerative.com/what-are-stem-cells>. Accessed February 5, 2022.
  28. *Strauer B.E., Kornowski R.* Stem cell therapy in perspective // *Circulation.* 2003. V. 107. № 7. P. 929–934.  
<https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000057525.13182.24>
  29. *Spangrude G.J.* Future challenges for hematopoietic stem cell research // *Biotechniques.* 2003. V. 35. № 6. P. 1273–1279.  
<https://doi.org/10.2144/03356ss07>
  30. *Hahn T., Bunworasate U., George M.C. et al.* Use of nonvolume-reduced (unmanipulated after thawing) umbilical cord blood stem cells for allogeneic transplantation results in safe // *Bone Marrow Transplantation.* 2003. V. 32. № 2. P. 145–150.  
<https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1704091>
  31. *Ronaghi M., Erceg S., Moreno-Manzano V. et al.* Challenges of stem cell therapy for spinal cord injury: human embryonic stem cells, endogenous neural stem cells, or induced pluripotent stem cells? // *Stem Cells.* 2010.

- V. 28. № 1. P. 93–99.  
<https://doi.org/10.1002/stem.253>
32. Okano H., Nakamura M., Yoshida K. et al. Steps toward safe cell therapy using induced pluripotent stem // *Circulat. Res.* 2013. V. 112. № 3. P. 523–533.  
<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.111.256149>
  33. Müller I., Kordowich S., Holzwarth C. et al. Bone-Marrow Transplantation: (First of Two Parts) // *New Engl. J. Med.* 1975. V. 292. № 16. P. 832–843.  
<https://doi.org/10.1056/NEJM197504172921605>
  34. Chapel A., Bertho J.M., Bensidhoum M. et al. Mesenchymal stem cells home to injured tissues when co-infused with hematopoietic cells to treat a radiation-induced multi-organ failure syndrome // *J. Gene Med.: A crossdisciplinary journal for research on the science of gene transfer and its clinical applications.* 2003. V. 5. № 12. P. 1028–1038.  
<https://doi.org/10.1002/jgm.452>
  35. Ferrara J.L.M., Levy R., Chao N.J. et al. Pathophysiologic mechanisms of acute graft-vs.-host disease // *Biol. Blood Marrow Transplant.* 1999. V. 5. № 6. P. 347–356.  
[https://doi.org/10.1016/S1083-8791\(99\)70011-X](https://doi.org/10.1016/S1083-8791(99)70011-X)
  36. Lennard A.L., Jackson G.H. Stem cell transplantation // *Bmj.* 2000. V. 321. № 7258. P. 433–437.  
<https://doi.org/10.1136/bmj.321.7258.433>
  37. Mourcin F., Grenier N., Mayol J.F. et al. Mesenchymal stem cells support expansion of in vitro irradiated CD34+ cells in the presence of SCF, FLT3 ligand, TPO and IL3: potential application to autologous cell therapy in accidentally irradiated victims // *Radiat. Res.* 2005. V. 164. № 1. P. 1–9.  
<https://doi.org/10.1667/RR3384>
  38. Hu K.X., Sun Q.Y., Guo M. et al. The radiation protection and therapy effects of mesenchymal stem cells in mice with acute radiation // *Brit. J. Radiol.* 2010. V. 83. № 985. P. 52–58.  
<https://doi.org/10.1259/bjr/61042310>
  39. Nardi N.B. Methodology, biology and clinical applications of mesenchymal stem cells // *Front. Biosci. (Landmark ed).* 2009. V. 14. P. 4281–4298.  
<https://doi.org/10.2741/3528>
  40. Gronthos S., Brahim J., Li W. et al. Stem cell properties of human dental pulp stem cells // *J. Dent. Res.* 2002. V. 81. № 8. P. 531–535.  
<https://doi.org/10.1177/154405910208100806>
  41. Chen J., Li Y., Katakowski M. et al. Intravenous bone marrow stromal cell therapy reduces apoptosis and promotes endogenous cell proliferation after stroke in female rat // *J. Neurosci. Res.* 2003. V. 73. № 6. P. 778–786.  
<https://doi.org/10.1002/jnr.10691>
  42. Lange C., Brunswig-Spickenheier B., Cappallo-Obermann H. et al. Radiation rescue: mesenchymal stromal cells protect from lethal irradiation // *PloS One.* 2011. V. 6. № 1. P. 22–26.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014486>
  43. Fouillard L., Chapel A., Bories D. et al. Infusion of allogeneic-related HLA mismatched mesenchymal stem cells for the treatment of incomplete engraftment following autologous haematopoietic stem cell transplantation // *Leukemia.* 2007. V. 21. № 3. P. 568–570.  
<https://doi.org/10.1038/sj.leu.2404550>
  44. Chinnadurai R., Forsberg M.H., Kink J.A. et al. Use of MSCs and MSC-educated macrophages to mitigate hematopoietic acute radiation syndrome // *Curr. Stem Cell Rep.* 2020. P. 1–9.  
<https://doi.org/10.1007/s40778-020-00176-0>
  45. Маклакова И.Ю. Влияние сочетанной трансплантации мультипотентных мезенхимальных стромальных и гемопоэтических стволовых клеток на регенерацию гемопоэтической ткани // *Бюлл. эксперим. биол. мед.* 2017. Т. 163. № 1. С. 73–77. [Maklakova I.Yu. Vliyanie sochetannoj transplantacii mul'tipotentnyh mezenhimal'nyh stromal'nyh i gemopojeticheskix stvolovyh kletok na regeneraciju gemopojeticheskoj tkani // *Byulleten' jeksperimental'noy biologii i mediciny.* 2017. V. 163. № 1. P. 73–77. (In Russ.)]
  46. Müller I., Kordowich S., Holzwarth C. et al. Application of multipotent mesenchymal stromal cells in pediatric patients following allogeneic stem cell transplantation // *Blood Cells, Molecules, and Diseases.* 2008. V. 40. № 1. P. 25–32.  
<https://doi.org/10.1016/j.bcmed.2007.06.021>
  47. Battiwalla M., Hematti P. Mesenchymal stem cells in hematopoietic stem cell transplantation // *Cytotherapy.* 2009. V. 11. № 5. P. 503–515.  
<https://doi.org/10.1080/14653240903193806>
  48. Le Blanc K., Samuelsson H., Gustafsson B. et al. Transplantation of mesenchymal stem cells to enhance engraftment of hematopoietic stem cells // *Leukemia.* 2007. V. 21. № 8. P. 1733–1738.  
<https://doi.org/10.1038/sj.leu.2404777>
  49. Kondo M., Wagers A.J., Manz M.G. Biology of hematopoietic stem cells and progenitors: implications for clinical application // *Ann. Rev. Immunol.* 2003. V. 21. № 1. P. 759–806.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.21.120601.141007>
  50. Levy O., Kuai R., Siren E.M. et al. Shattering barriers toward clinically meaningful MSC therapies // *Sci. Advanc.* 2020. V. 6. № 30. P. eaba6884.  
<https://doi.org/10.1126/sciadv.aba6884>
  51. Cuende N.A.T.I.V.I.D.A.D., Rasko J.E. et al. Cell, tissue and gene products with marketing authorization in 2018 worldwide // *Cytotherapy.* 2018. V. 20. № 11. P. 1401–1413.  
<https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2018.09.010>
  52. Available Products. Available at: <https://alliancerm.org/available-products/>. Accessed February 5, 2022.
  53. Hemacord®. Available at: <http://hemacord.info/>. Accessed February 5, 2022.
  54. Kotsiou E., Davies J.K. New ways to separate Graft-versus-Host Disease and Graft-versus-Tumour effects af-

- ter allogeneic haematopoietic stem cell transplantation // *Br. J. Haematol.* 2013. V. 160. № 2. P. 133–145. <https://doi.org/10.1111/bjh.12115>
55. *Schmitz N., Pfistner B., Sextro M. et al.* Aggressive conventional chemotherapy compared with high-dose chemotherapy with autologous haemopoietic stem-cell transplantation for relapsed chemosensitive Hodgkin's disease: a randomised trial // *Lancet.* 2002. V. 359. № 9323. P. 2065–2071. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)08938-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)08938-9)
56. *Rashidi A., Ebadi M., Cashen A.F.* Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in Hodgkin lymphoma: a systematic review and meta-analysis // *Bone Marrow Transplant.* 2016. V. 51. № 4. P. 521–528. <https://doi.org/10.1038/bmt.2015.332>
57. *Carella A.M., Cavaliere M., Lerma E. et al.* Autografting followed by nonmyeloablative immunosuppressive chemotherapy and allogeneic peripheral-blood hematopoietic stem-cell transplantation as treatment of resistant Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma // *J. Clin. Oncol.* 2000. V. 18. № 23. P. 3918–3924. <https://doi.org/10.1200/JCO.2000.18.23.3918>
58. *Sharma A., Jagannath V.A., Puri L.* Hematopoietic stem cell transplantation for people with  $\beta$ -thalassaemia // *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2021. № 4. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD008708.pub5>
59. *Al Hamed R., Bazarbachi A.H., Malard F. et al.* Current status of autologous stem cell transplantation for multiple myeloma // *Blood Cancer J.* 2019. V. 9. № 4. P. 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41408-019-0205-9>
60. *Ifikhar R., Anwer F., Neupane K. et al.* Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in aplastic anemia: current indications and transplant strategies // *Blood Rev.* 2021. V. 47. P. 100772. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2020.100772>
61. *Gratwohl A., Heim D.* Current role of stem cell transplantation in chronic myeloid leukaemia // *Best Practice & Res. Clin. Haematol.* 2009. V. 22. № 3. P. 431–443. <https://doi.org/10.1016/j.beha.2009.05.002>
62. *Buckley R.H., Schiff S.E., Schiff R.I. et al.* Hematopoietic stem-cell transplantation for the treatment of severe combined immunodeficiency // *New Engl. J. Med.* 1999. V. 340. № 7. P. 508–516. <https://doi.org/10.1056/NEJM199902183400703>
63. PR Newswire: press release distribution, targeting, monitoring home Available at: <http://www.prnewswire.com> Accessed February 5, 2022.
64. Hemacord®. Available at: <https://www.rxlist.com/hemacord-drug.htm#description>. Accessed February 5, 2022.
65. Clevecord (cord blood) drug. Available at: <https://www.rxlist.com/clevecord-drug.htm#>. Accessed February 5, 2022.
66. *Santhakumar S., Mohanan P.V.* Medical products from stem cells // *Biomedical Product and Materials Evaluation.* Woodhead Publishing, 2022. P. 259–274. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823966-7.00008-6>
67. *Брюховецкий А.С., Абашин И.М.*: Пат. 2741769 Российская Федерация, МПК А61К 35/14, А61К 35/28, А61К 35/35, А61Р 25/00, А61Р 35/00. Биомедицинский клеточный продукт, способ его получения и применения [Текст] / Заявитель и патентообладатель Брюховецкий А.С., Абашин И.М. № 2018145640; заявл. 21.12.18; опубл. 22.06.20, Бюл. № 18. 55 с.: ил. [*Bryuhoveckiy A.S., Abashin I.M.*: Pat. 2741769 Rossijskaya Federaciya, МПК А61К 35/14, А61К 35/28, А61К 35/35, А61Р 25/00, А61Р 35/00. Biomedical cell product, method for its production and application [Tekst] / Zayavitel' i patentoobladatel' Brjuhoveckij A.S., Abashin I.M. № 2018145640; zayavl. 21.12.18; opubl. 22.06.20, Byul. № 18. 55 p.: il. (In Russ.)]
68. *Zhou Y., Tsai T.L., Li W.J. et al.* Strategies to retain properties of bone marrow-derived mesenchymal stem cells ex vivo // *Ann. New York Acad. Sci.* 2017. V. 1409. № 1. P. 3–17. <https://doi.org/10.1111/nyas.13451>
69. *Ahmadbeigi N., Soleimani M., Vasei M. et al.* Isolation, characterization, and transplantation of bone marrow-derived cell components with hematopoietic stem cell niche properties // *Stem Cells Develop.* 2013. V. 22. № 23. P. 3052–3061. <https://doi.org/10.1089/scd.2013.0005>
70. *Link H., Arseniev L., Bahre O. et al.* Transplantation of allogeneic CD34+ blood cells // *Blood.* 1996. V. 87. № 11. P. 4903–4909. <https://doi.org/10.1182/blood.V87.11.4903.bloodjournal87114903>
71. *Najima Y., Ohashi K.* Mesenchymal stem cells: The first approved stem cell drug in japan // *J. Hematopoi. Cell Transplant.* 2017. V. 6. № 3. P. 125–132. <https://doi.org/10.7889/hct-16-031>
72. *Murata M., Terakura S., Wake A. et al.* Off-the-shelf bone marrow-derived mesenchymal stem cell treatment for acute graft-versus-host disease: real-world evidence // *Bone Marrow Transplant.* 2021. P. 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41409-021-01304-y>
73. *Ringdén O., Karlsson H., Olsson R. et al.* The allogeneic graft-versus-cancer effect // *Br. J. Haematol.* 2009. V. 147. № 5. P. 614–633. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2009.07886.x>
74. *Shimoto M., Sugiyama T., Nagasawa T.* Numerous niches for hematopoietic stem cells remain empty during homeostasis // *Blood: J. Am. Soc. Hematol.* 2017. V. 129. № 15. P. 2124–2131. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-09-740563>
75. *Wilkinson A.C., Ishida R., Kikuchi M. et al.* Long-term ex vivo haematopoietic-stem-cell expansion allows nonconditioned transplantation // *Nature.* 2019. V. 571. № 7763. P. 117–121. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1244-x>

## Modern Cellular Products for the Treatment of Bone Marrow Form Acute Radiation Syndrome

D. P. Belozerov<sup>a</sup>, N. V. Varlamova<sup>a,#</sup>, P. K. Potapov<sup>a</sup>, O. A. Nizovceva<sup>b</sup>, A. A. Jesibov<sup>a</sup>, R. R. Bajkiev<sup>a</sup>,  
I. V. Markin<sup>a</sup>, E. A. Zhurbin<sup>a</sup>, and M. E. Finogentov<sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Military Innovative Technopolis "ERA", Anapa, Russia*

<sup>b</sup> *State Budgetary Institution of Healthcare Anapa City Hospital, Anapa, Russia*

<sup>#</sup> *E-mail: era\_1@mil.ru*

Nuclear technology has become part of our daily lives over the past 50 years. The threat of man-made radiation damage and the increasing number of cancer patients in need of radiotherapy are factors contributing to the development of new approaches to the treatment of acute radiation syndrome. This article summarizes information on the effect of ionizing radiation on the human body and analyzes modern approaches to cell therapy. Biomedical cell products based on stem cells for the reconstruction of the hematopoietic system are considered. Currently, there are 10 drugs containing MSCs and 8 drugs containing HSCs in the world, which are approved by the state authorities of various countries (Japan, South Korea, etc.) for medical use. Despite the fact that the therapeutic effect of stem cells has been clinically proven, there are problems that need to be solved to improve the effectiveness of treatment. Such problems include the efficiency of HSCs and MSCs co-transplantation, the optimal order and timing of injections, the dosage of both components, as well as reducing the risk of graft rejection. Solving these problems will make it possible to develop new and improve existing methods of tissue damage regeneration, which will increase lifespan and quality of patient's life with acute radiation sickness.

**Keywords:** ionizing radiation, acute radiation syndrome, cell therapy, MSCs, HSCs

---

---

**МОДИФИКАЦИЯ  
РАДИАЦИОННЫХ ЭФФЕКТОВ**

---

---

УДК 577.17:616-03:599.323.4:57.084.1:612.014.481.1

**МЕЛАТОНИН СНИЖАЕТ РАДИАЦИОННЫЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ  
СЕЛЕЗЕНКИ И УВЕЛИЧИВАЕТ ВЫЖИВАЕМОСТЬ ПРИ ЕГО ВВЕДЕНИИ  
ДО И ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА МЫШЕЙ РЕНТГЕНОВСКОГО  
ИЗЛУЧЕНИЯ**© 2022 г. С. А. Абдуллаев<sup>1,2,\*</sup>, С. И. Глухов<sup>1</sup>, А. И. Газиев<sup>1</sup><sup>1</sup> Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия<sup>2</sup> ГИЦ Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия

\*E-mail: saabdullaev@gmail.com

Поступила в редакцию 07.04.2022 г.

После доработки 20.06.2022 г.

Принята к публикации 29.06.2022 г.

Исследовали повреждения селезенки после воздействия рентгеновского облучения всего тела мышей в дозе 5 Гр и модуляции этих повреждений введением мелатонина (МЕЛ). Одновременно определяли влияние МЕЛ на выживаемость мышей, облученных в дозах 5 и 9 Гр. При этом оценивались повреждения и репарация ядерной ДНК, уровни малонового диальдегида (МДА), восстановленного глутатиона (ГЛТ) и частоты индукции микроядер в клетках костного мозга мышей. Результаты показали, что в селезенке мышей, получивших МЕЛ, пострадиационное восстановление ДНК происходит более активно по сравнению с таковым у контрольных групп. При этом эффект модуляции МЕЛ более выражен в тканях мышей, которым вводили МЕЛ после облучения. Уровни МДА резко снижаются в селезенке мышей, которым вводили МЕЛ, тогда как содержание ГЛТ существенно повышается. У облученных мышей, которым вводили МЕЛ, также наблюдается снижение частоты микроядер. Результаты по выживаемости мышей показали, что МЕЛ оказывает эффективную защиту от воздействия рентгеновского излучения. Наблюдаемая радиационная защита МЕЛ более выражена при его введении мышам после облучения в дозах 5 и 9 Гр. Таким образом, МЕЛ снижает радиационные повреждения селезенки и увеличивает выживаемость мышей при его введении до и после их облучения.

**Ключевые слова:** селезенка, мелатонин, радиопротектор, радиомитигатор, репарация ДНК, малоновый диальдегид, глутатион, микроядра, выживаемость мышей

**DOI:** 10.31857/S0869803122050034

Селезенка является одним из важнейших радиочувствительных лимфоидных органов, которая выполняет широкий спектр иммунологических функций, и она рассматривается как центр системы защиты крови, поддерживающий уровни лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов [1–3].

Радиационное повреждение селезенки происходит при различных ситуациях, возникающих при воздействии ионизирующих излучений (ИИ), в частности, в процессе лучевой терапии опухолей внутрибрюшинных органов [4].

В настоящее время на практике для радиационной защиты здоровых тканей при лучевой терапии применяют несколько разрешенных препаратов, однако эффективность этих соединений еще весьма ограничена [2]. Поэтому поиск нетоксических и эффективных соединений для снижения повреждений нормальных тканей в процессе

лучевой терапии актуален. Поскольку лимфоидные ткани очень чувствительны к ИИ, то повреждение селезенки при длительном воздействии жесткого космического излучения на космонавтов также остается критическим фактором при космических полетах за пределами земной орбиты. Метаболизм селезенки и изменения пострадиационных состояний иммунных реакций, зависящие от селезенки, после воздействия малых доз космической радиации хорошо задокументированы у экспериментальных животных и космонавтов [5, 6].

Ранее было показано, что диетические добавки антиоксидантов снижают частоту мутаций в локусе гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы (*hprt*) спленоцитов [7] и повышают экспрессию генов, предотвращающих апоптоз, и антиоксидантных ферментов в клетках селезенки

мышей, подвергнутых  $\gamma$ -облучению [8]. Следует отметить также, что в отличие от других тканей, селезенка имеет определенную специфику проявления реакции на радиационное воздействие. Она обусловлена тем, что спленциты содержат повышенный уровень ионов железа, которые после радиационного воздействия высвобождаются и могут способствовать чрезмерному усилению уровня окислительного стресса с индукцией ферроптоза клеток селезенки [9]. Поэтому для подавления повышенного уровня окислительного стресса в спленцитах при радиационном воздействии необходим более активный антиоксидант.

Результаты множества исследований указывают, что в качестве одного из наиболее активных антиоксидантов-радиопротекторов для снижения радиационных повреждений можно рассматривать мелатонин (N-ацетил-5-метокситриптамин), подавляющий эффекты воздействия ИИ *in vitro* и *in vivo* [10]. В настоящее время мелатонин (МЕЛ) клинически применяется как препарат, нормализующий циркадные ритмы, а также все чаще находят его применение в качестве адъюванта при лучевой терапии опухолей [11–13]. Поэтому исследование радиопротекторного, радиомитигаторного действия МЕЛ на наиболее радиочувствительные ткани млекопитающих, в частности, на селезенку, представляет значительный интерес.

Задачей настоящего исследования являлась сравнительная оценка радиопротекторного и радиомитигаторного действия МЕЛ на селезенку. В качестве оценочных маркеров мы использовали результаты анализа повреждения и репарации ядерной ДНК, изменения уровней малонового диальдегида (МДА) – продукта окисления липидов и уровней восстановленного глутатиона (ГЛТ) – маркера активности антиоксидантной системы. А также анализировали изменения частоты микроядер (МЯ) в клетках костного мозга, на уровень которых оказывает влияние функциональное состояние селезенки [14]. Важнейшим оценочным критерием радиопротекторного, радиомитигаторного действия МЕЛ на мышей являлась также регистрация пострадиационного выживания при введении препарата до и после облучения в дозах 5 и 9 Гр.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Мыши-самцы линии C57BL/6 в возрасте 2 мес. массой 20–22 г были получены из питомника “Столбовая, Московская обл.”. Мышей использовали в опытах после 7 дней акклиматизации в помещении для животных ИТЭБ РАН. Все эксперименты с животными проводили в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых в эксперимен-

тальных и других научных целях, Директивой 2010/63/EU. Протокол был одобрен Комитетом по биомедицинской этике ИТЭБ РАН/секцией физиологии Комитета по биоэтике России (протокол № 20 от 9 февраля 2021 г.). Животные находились на специальной диете для мышей и крыс со свободным доступом к чистой питьевой воде. Облучение животных проводили в Центре коллективного пользования – группе источников излучения Института биофизики клетки РАН на рентгеновском аппарате РУТ-250-15-1 (280 кВп, 20 мА) с фильтрами AL и Cu 1 мм при мощности дозы 1 Гр/мин. Животных облучали в пластиковых контейнерах в дозе 5 Гр при определении повреждения и репарации ДНК, в дозе 2 Гр при анализах частоты микроядер клеток костного мозга и в дозах 5 и 9 Гр при определении их выживаемости после облучения.

Мелатонин (“Sigma-Aldrich”, США) растворяли в кипяченой питьевой воде (комнатной температуры), содержащей 0.1% диметилсульфоксида (ДМСО). Конечные концентрации этого раствора составляли 2.5% МЕЛ и 0.1% ДМСО. Раствор вводили мышам перорально в объеме 100 мкл, что соответствует дозам МЕЛ 125 мг/кг и ДМСО 0.1 мг/кг массы тела мыши [15]. Также отдельно готовили 0.1%-ный раствор ДМСО для введения контрольным группам мышей. Каждая отдельная группа состояла из пяти мышей. Препарат дополнительно вводили (0.3 мг/мл) в питьевую воду в течение 24 и 48 ч мышам, получавшим его основную дозу через 20 мин после облучения, учитывая короткий клиренс МЕЛ [15].

Для изолирования ткани селезенки мышей умерщвляли путем обезглавливания через 15 мин, 24 и 48 ч после облучения. В качестве контроля использовали группы как необлученных, так и облученных мышей, не получавших МЕЛ. Селезенку изолировали, замораживали при  $-80^{\circ}\text{C}$  до проведения анализов.

Ткани селезенки гомогенизировали и выделяли общую геномную ДНК с использованием специальных наборов QIAGEN Genomic Tip Kit и Genomic DNA Buffer в соответствии с инструкциями производителя (“QIAGEN”, Германия). Количество ДНК во всех случаях определяли по ее реакции с реагентом PicoGreen, согласно протоколу производителя (“Molecular Probes”, США) с регистрацией флуоресценции на приборе Infinite 200 NanoQuant (“Tecan Group” Ltd., Австрия). Анализ повреждения и репарации ДНК был проведен с использованием метода количественной ПЦР на протяженных фрагментах (ПЦР-ПФ) [16] с учетом нашего предыдущего опыта [17]. Для амплификации протяженных ампликонов использовали (2U/мкл) KAPA Long Range Hot Start Kit (“KAPA Biosystems”, США). Для амплификации длинного фрагмента ДНК (8.7 т.п.о.) исполь-

зовали следующие праймеры: forward 5'-TTG AGA CTG TGA TTG GCA ATG CCT-3'; reverse 5'-CCT TTA ATG CCC ATC CCG GAC T-3'. Программа включала начальную денатурацию при 94°C в течение 5 мин и 28 циклов при 94°C в течение 30 с и 68°C в течение 12 мин с конечной элонгацией при 72°C в течение 10 мин. Предварительные анализы были выполнены, чтобы гарантировать линейность амплификации ПЦР в отношении количества циклов и концентрации ДНК. Поскольку амплификация небольшой области была бы относительно независимой от повреждения ДНК (низкая вероятность), небольшие фрагменты ДНК (110 п.о.) также были амплифицированы для нормализации данных, полученных с большими фрагментами, как описано ранее [16, 17]. Для амплификации коротких фрагментов яДНК (110 п.о.) использовали следующие праймеры: forward 5'-CTG CCT GAC GGC CAG G-3'; reverse 5'-GGA AAA GAG CCT CAG GGC AT-3'. ПЦР-анализы проводили в трех экземплярах для каждого образца ДНК. Все амплифицированные продукты были разделены и визуализированы с использованием электрофореза в агарозном геле и количественно определены с помощью системы Image Quant ("Molecular Dynamics", США).

Изменение содержания МДА в ткани селезенки определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), согласно методу Бюге и Ауста [18]. Для этого ткани селезенки гомогенизировали в лизисном буфере (50 ммоль/л Трис-Cl, 1% NP-40, 0.2% дезоксихолата натрия, 0.1% SDS, 150 ммоль/л NaCl и 1 ммоль/л ЭДТА). Далее один объем лизата тканей смешивали с двумя объемами реагента ТБК (15% ТХУК, 0.375% ТБК и 0.25 н HCl) с последующей инкубацией при 90°C в течение 30 мин. После охлаждения реакционную смесь центрифугировали при 10000 об/мин в течение 15 мин. Поглощение супернатанта измеряли при 533 нм. Уровень перекисного окисления липидов рассчитывали по содержанию МДА в нанолях на миллиграмм белка.

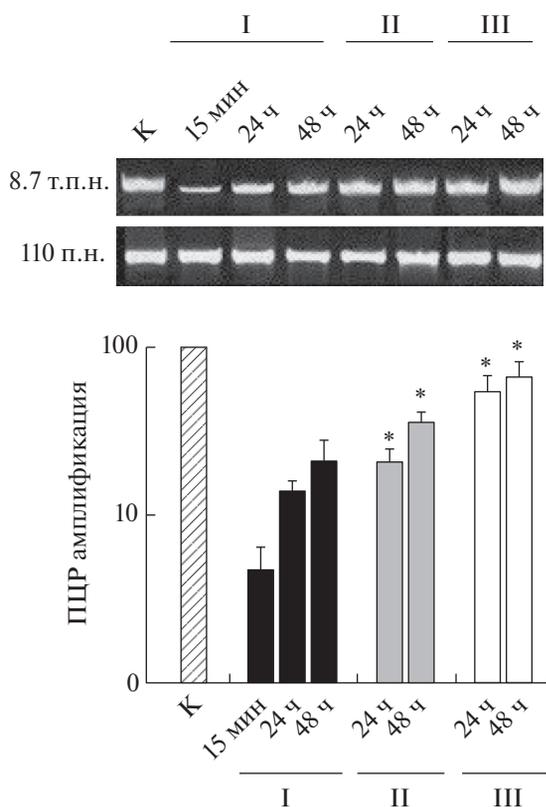
Содержание ГЛТ оценивали по методу Элмана [19]. Ткани гомогенизировали в лизисном буфере, как указано при определении МДА. К 0.2 мл гомогената ткани добавляли 1.8 мл 0.05 М ЭДТА и 3 мл осаждающего реагента (содержащего 1.67 г НРОЗ, 0.2 г динатриевой соли ЭДТА и 30 г NaCl на 1 л воды). После тщательного перемешивания смесь выдерживали в течение 5–7 мин, затем центрифугировали. Этот шаг способствует отделению ГЛТ (в супернатанте) от остальной части белков и других клеточных элементов (в осадке). Затем к другому объему супернатанта добавляли два объема 0.3 моль/л раствора Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> и 0.5 объема DTNB (5,5'-дителиобис-2-нитробензойной кислоты). Поглощение определяли при 412 нм против смеси растворов без добавок био-

материала. ГЛТ оценивали в нмоль/мг белка, с использованием стандартной кривой.

Частоту МЯ в клетках костного мозга мышей анализировали стандартным методом [20]. Мышей облучали в дозе 2 Гр [21]. МЕЛ вводили мышам, как указано выше, до их облучения и после облучения (с дополнительным введением в питьевую воду 0.3 мг/мл МЕЛ в течение 24 ч пострадиационного времени). Необлученных мышей с введением и без введения мелатонина использовали в качестве контрольной группы. В каждой группе было по пять животных. Мышей декапитировали через 24 ч после облучения (образцы из контрольной группы также отбирали через 24 ч после введения МЕЛ). Клетки ресуспендировали в сыворотке и готовили мазки, фиксировали метанолом и окрашивали методом May-Grunwald-Giemsa (Merck, Германия). Для каждой мыши было приготовлено четыре предметных стекла, всего 2000 полихроматофильных эритроцитов были подсчитаны для определения частоты образования микроядер в клетках костного мозга.

Выживаемость животных при облучении всего тела мышей была определена в соответствии с рекомендациями, как указано [22, 23]. Были использованы две дозы облучения: летальная доза – 9 Гр, вызывающая 100%-ную гибель в течение 30 дней, и сублетальная доза – 5 Гр, вызывающая гибель примерно 50% в течение 30 дней пострадиационного периода. Мыши были разделены на семь групп: три группы, облученные в дозе 5 Гр, три группы, облученные в дозе 9 Гр, и одна группа – не облученная. Раствор МЕЛ вводили мышам за 30 мин до облучения или через 20 мин после облучения, как указано выше. Группе животных, которым вводили МЕЛ после облучения, дополнительно добавляли в питьевую воду МЕЛ (0.3 мг/мл) в течение 5 сут пострадиационного времени, учитывая короткий клиренс данного препарата [15]. Выживаемость животных контролировали в течение 30 дней после облучения, количество выживших мышей проверяли в одно и то же время каждый день. Все группы мышей в анализах выживаемости включали по 30 животных.

В экспериментах на выживаемость кривые выживаемости разных групп сравнивали с помощью точного критерия Фишера. В остальных анализах результаты выражены как среднее значение  $\pm$  SEM из 5–6 независимых экспериментов;  $p < 0.05$  считалось статистически значимым. Статистический анализ был выполнен с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 8.0 (San Diego, CA, США).



**Рис. 1.** Анализ повреждений и репарации ядерной ДНК в ткани селезенки мышей через 15 мин, 24 и 48 ч после рентгеновского облучения в дозе 5 Гр. Амплифицировали длинные фрагменты яДНК (8.7 т.п.о.). Эти данные были нормализованы к коротким фрагментам яДНК (110 п.о.), полученным с использованием того же образца ДНК. I – 5 Гр, II – МЕЛ + 5 Гр (за 30 мин до облучения), III – 5 Гр + МЕЛ (20 мин после облучения). К – контроль (необлученные мыши). Данные представлены как среднее  $\pm$  SEM из 5–6 независимых экспериментов.

\* Статистически значимые различия  $p < 0.05$ .

**Fig. 1.** Analysis of nuclear DNA damage and repair in mouse spleen tissue 15 min, 24 and 48 hours after X-irradiation at a dose of 5 Gy. Long nDNA fragments (8.7 kb) were amplified. These data were normalized to short nDNA fragments (110 bp) obtained using the same DNA sample. I – 5 Gy, II – MEL + 5 Gy (30 min before irradiation), III – 5 Gy + MEL (20 min after irradiation). C – control (non-irradiated mice). Data are presented as mean  $\pm$  SEM from 5–6 independent experiments.

\* Statistically significant differences  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первое сообщение о том, что МЕЛ является активным эндогенным перехватчиком свободных радикалов [19], вызвало к нему повышенный интерес как к потенциальному природному радиопротектору. Дальнейшие многочисленные исследования показали, что МЕЛ является радиопротекторным агентом, который проявляет необычайное разнообразие функций [20–24].

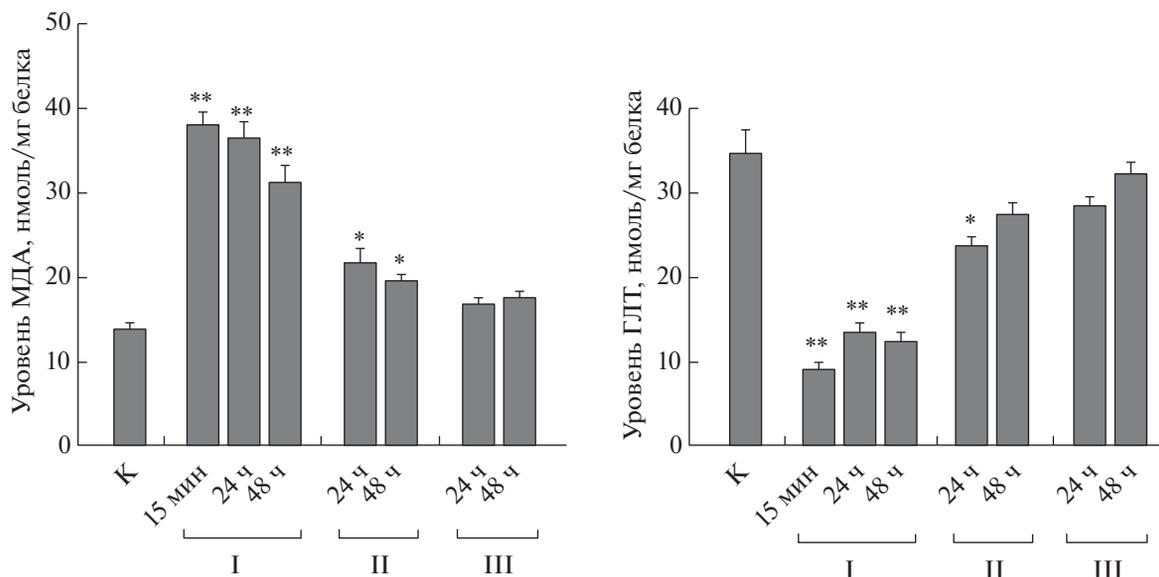
На рис. 1 представлены результаты анализов повреждения и репарации ДНК селезенки мышей, облученных в дозе 5 Гр и обработанных МЕЛ. Наличие в цепи ДНК повреждений, таких как модифицированные основания, апуриновые/апиримидиновые сайты, одонитевые и двуниевые разрывы (ДР), или ДНК-белковые сшивки может блокировать активность ДНК-полимеразы КАРА Biosystems, которая была нами использована для ПЦР-ПФ ДНК. Таким образом, данный метод позволяет оценить общий уровень повреждения ДНК.

Можно видеть, что уровень синтезируемых продуктов ПЦР-ПФ ДНК, выделенных из ткани селезенки мышей через 48 ч после их облучения, существенно ниже, чем таковой у контрольных (необлученных) мышей. Этот результат указывает на наличие в образцах ДНК облученных мышей повреждений, способных блокировать ДНК-полимеразу быстрого запуска ПЦР КАРА Long Range. Дальнейшее сохранение низких уровней амплификации участка ДНК указывает на наличие в них нерепарированных повреждений. Однако к 24 и 48 ч пострадиационного времени наблюдается увеличение продуктов ПЦР-ПФ, что указывает на функционирование процессов репарации повреждений ДНК.

Согласно полученным данным, результаты показывают также, что количество амплифицируемых продуктов ПЦР-ПФ ДНК становится больше при введении МЕЛ до и после облучения мышей в течение 48 ч. Это, как можно было ожидать, указывает на тот факт, что МЕЛ способствует снижению повреждений ДНК. Это может происходить как на начальном этапе воздействия радиации, в результате перехвата активных форм кислорода и азота (АФК/А), так и в пострадиационный период. В любом случае мы видим, что происходит снижение повреждений ДНК.

Таким образом, при введении МЕЛ после облучения мышей репарация ДНК происходит более активно, чем в случае введения МЕЛ мышам до облучения. В статье А. Galano и соавт. [25] дается анализ многих исследований о роли МЕЛ в защите ДНК от окислительного повреждения – посредством удаления из клеток свободных радикалов и других форм АФК/А, а также активацией ферментов эксцизионной репарации ДНК. МЕЛ активирует экспрессию генов, кодирующих ферментов репарации ДНК и антиоксидантных ферментов, но подавляет активность прооксидантных ферментов.

Таким образом, становится понятно, что МЕЛ обеспечивает защиту ядерного генома разными путями [25]. Недавно сообщалось, что МЕЛ защищает ДНК от индукции ДР в ДНК лимфоцитов крови пациентов, перенесших компьютерную томографию (КТ). Более того, группе пациентов,



**Рис. 2.** Изменение содержания МДА и ГЛТ в ткани селезенки мышей через 15 мин, 24 и 48 ч после рентгеновского облучения в дозе 5 Гр. I – мыши без введения МЕЛ; II – введение МЕЛ перед облучением; III – введение МЕЛ после облучения. Данные представлены как среднее  $\pm$  SEM из 5–6 независимых экспериментов.

\* Статистически значимые различия  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .

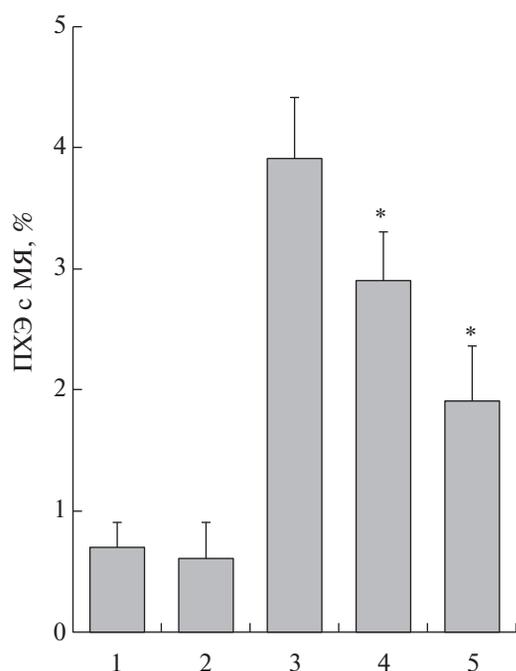
**Fig. 2.** Changes in the content of MDA and GSH in the spleen tissue of mice 15 min, 24 and 48 hours after X-irradiation at a dose of 5 Gy. I – mice without the introduction of MEL; II – the introduction of MEL before irradiation; III – the introduction of MEL after irradiation. Data are presented as mean  $\pm$  SEM from 5–6 independent experiments.

\* Statistically significant differences  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .

которым вводили перорально однократную дозу 100 мг МЕЛ за 5–10 мин до и через 30 мин после КТ, такие повреждения ДНК не были зафиксированы [26]. Эти результаты подтверждаются в другом исследовании, в котором наблюдали ДР ДНК в лимфоцитах при воздействии ИИ в дозах 10 и 100 мГр. Введение 100 мг МЕЛ пациентам до облучения вызывало снижение уровня ДР ДНК [27]. В другом исследовании при инкубации лимфоцитов крови человека в среде с добавлением радиоактивного йода  $^{131}\text{I}$  за 2 ч в присутствии МЕЛ количество индуцированных ДР ДНК уменьшилось на 40% относительно контроля (лимфоциты, инкубированные с  $^{131}\text{I}$  без МЕЛ) [28]. Результаты анализов свидетельствуют о том, что полное восстановление повреждений ДНК, способных блокировать ДНК-полимеразу КАРА Biosystems в селезенке облученных мышей, протекает достаточно медленно в течение 48 ч (рис. 1). Возможно, наблюдаемое неполное восстановление ДНК в течение 24–48 ч в ткани селезенки облученных мышей без введения МЕЛ обусловлено возникновением дополнительных повреждений. Эти дополнительные повреждения могут возникнуть в результате действия АФК/А, которые генерируются в дисфункциональных митохондриях или активацией НАДН-оксидаза в тех же клетках [29, 30].

При этом антиоксидантная активность в тканях и крови облученных мышей может резко снижаться [31]. С введением МЕЛ, очевидно, происходит существенная “уборка” этих АФК/А и повышение антиоксидантной активности.

На рис. 2 представлены результаты анализов изменения содержания МДА и ГЛТ в селезенке мышей, облученных (5 Гр) и получавших МЕЛ, которые, как можно было ожидать, происходит разнонаправленно. Количественное содержание МДА в ткани характеризует уровни перекисного окисления липидов. Так, если содержание МДА в селезенке повышается после облучения, то содержание ГЛТ снижается. А при введении МЕЛ мышам до их облучения и после облучения препарат способствует снижению содержания МДА и восстановлению уровня ГЛТ. Повышение содержания МДА и снижение восстановленного ГЛТ в ткани селезенки мышей после их облучения можно рассматривать как результат развития окислительного стресса и снижения антиоксидантной активности. Таким образом, данные анализы показывают, что в облученных клетках и по этим маркерам также реализуется радиопротекторный и радиомитигаторный потенциал МЕЛ как результат повышения уровня антиоксидантной активности в клетках. Это согласуется с сообще-



**Рис. 3.** Частота образования микроядер в полихроматических эритроцитах костного мозга мышей после рентгеновского облучения в дозе 2 Гр. 1 – контроль (необлученная группа); 2 – после введения МЕЛ; 3 – облученные; 4 – МЕЛ (за 30 мин до облучения) + облучение; 5 – облучение + МЕЛ (20 мин после облучения). Анализы проводили через 24 ч после облучения. Данные представлены как среднее значение  $\pm$  SEM из 5–6 независимых экспериментов.

\* Статистически значимые различия  $p < 0.05$ .

**Fig. 3.** The frequency of micronucleus formation in polychromatic erythrocytes of the bone marrow of mice after X-irradiation at a dose of 2 Gy. 1 – control (non-irradiated group); 2 – after the introduction of MEL; 3 – irradiated; 4 – MEL (30 min before irradiation) + irradiation; 5 – irradiation + MEL (20 min after irradiation); Analyzes were performed 24 hours after irradiation. Data are presented as mean  $\pm$  SEM from 5–6 independent experiments.

\* Statistically significant differences  $p < 0.05$ .

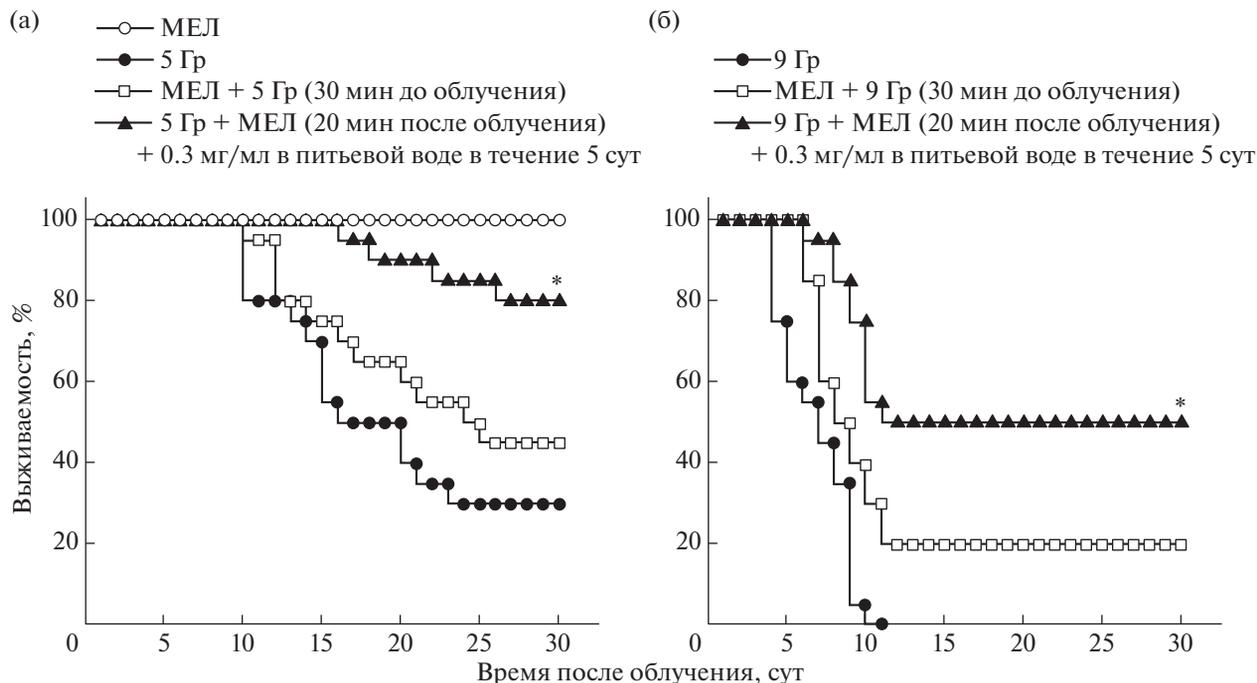
щениями о резком снижении антиоксидантной активности в крови мышей в течение 50 дней после их облучения [31, 32].

Радиационное повреждение селезенки, по-видимому, в определенной степени связано также с проявлением гематологической токсичности и оказывает влияние на состояние клеток костного мозга [33, 34]. Много лет используется микроядерный тест как один из популярных методов генотоксической оценки действия ИИ *in vitro* и *in vivo*. Формирование МЯ в облученных делящихся клетках принято рассматривать как результат разрыва хромосом [34]. Результаты анализов МЯ в клетках костного мозга мышей представлены на рис. 3. При введении МЕЛ мышам до их облучения частота микроядер снижалась на

30%, а при введении после облучения – на 70% относительно мышей, облученных без введения препарата. Результаты согласуются с данными, полученными на лимфоцитах крови человека *in vitro*, обработанных МЕЛ после облучения [20]. При введении МЕЛ мышам до их облучения частота микроядер значительно снижалась относительно мышей, облученных без введения препарата [20]. В работе А. Rostami и соавт. было показано, что МЕЛ отдельно и в сочетании с витамином С также резко снижает частоту микроядер в лимфоцитах человека, индуцируемых ИИ [35].

Результаты экспериментов сравнительной оценки радиопротекторного и радиомитигаторного действия МЕЛ на мышей представлены на рис. 4 в виде кривых выживаемости. Полученные результаты показывают, что в группе контрольных облученных в дозе 5 Гр (без введения МЕЛ) мышей приблизительно 25% животных оставались живыми в течение 30 сут. В группе контрольных облученных в дозе 9 Гр мышей (без введения МЕЛ) наблюдалась 100%-ная гибель животных на 11-е сутки. Однако при обеих дозах облучения мышей с введением МЕЛ наблюдался радиозащитный эффект. В случае при введении МЕЛ до облучения в дозах 5 и 9 Гр наблюдался меньший радиозащитный эффект, т.е. в живых оставались 45 и 20% животных соответственно. В случае при введении МЕЛ через 20 мин после облучения (с дополнительным введением МЕЛ в питьевую воду 0.3 мг/мл в течение 5 сут пострадиационного времени) получен другой результат. При этом с введением МЕЛ при облучении в дозах 5 и 9 Гр на 30-е сутки остались в живых 80 и 50% животных соответственно. Таким образом, МЕЛ способен снижать пострадиационную гибель животных при его введении не только до их облучения, но и в режиме после радиационного воздействия. Ранее во многих публикациях был продемонстрирован радиозащитный эффект МЕЛ при его введении животным до облучения [20–24]. Результаты нашего исследования показали, что последствия лучевой реакции можно снизить и путем введения МЕЛ после радиационного воздействия. Это положение согласуется также с данными исследования Р. Amini и соавт., которые показали, что эффект радиомитигаторного действия МЕЛ удается достичь даже при его введении мышам через 24 ч после их облучения [36]. Авторы показали, что введением МЕЛ мышам через 24 ч после их облучения удается снизить повреждение гемопоэтической системы, а также достичь повышения выживаемости этих мышей.

Таким образом, результаты указывают, что МЕЛ имеет достаточный потенциал в качестве средства снижения радиационных эффектов при его использовании до и после радиационного воздействия.



**Рис. 4.** Кривые выживаемости мышей ( $n = 30$ ) при введении МЕЛ (125 мг/кг) за 30 мин до и через 20 мин после рентгеновского облучения (с дополнительным введением МЕЛ 0.3 мг/мл в питьевой воде в течение 5 дней) в дозах 5 Гр (а) и 9 Гр (б). Выживание животных наблюдали в течение 30 дней после облучения.

\* Статистически значимые различия  $p < 0.05$ .

**Fig. 4.** Survival curves of mice ( $n = 30$ ) with the introduction of MEL (125 mg/kg) 30 minutes before and 20 minutes after X-irradiation (with additional administration of MEL 0.3 mg/ml in drinking water for 5 days) at doses of 5 Gy (a) and 9 Gy (b). Animal survival was observed for 30 days after irradiation.

\* Statistically significant differences  $< 0.05$ .

Следует заметить, что, возможно, радиопротекторное и радиомитигаторное действие МЕЛ обусловлено не только его способностью ослабить окислительный стресс в облученных клетках селезенки и других тканей посредством уборки АФК/А, но и активацией в клетках иммунной системы, чрезвычайно чувствительной к воздействию ИИ [37, 38].

Таким образом, результаты многих исследований и представленные нами данные свидетельствуют, что МЕЛ имеет высокий потенциал в качестве лучшего радиозащитного средства для активного практического использования.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено в рамках государственного задания ИТЭБ РАН № 075-00381-21-00 и при поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 17-29-01007 офи\_м.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Mebius R.E., Kraal G.* Structure and function of the spleen // *Nat. Rev. Immunol.* 2005. V. 5. P. 606–616.
2. *Lewis S.M., Williams A., Eisenbarth S.C.* Structure-function of the immune system in the spleen // *Sci. Immunol.* 2019. V. 4. № 33. aau6085.
3. *Kashimura M.* The human spleen as the center of the blood defense system // *Int. J. Haematol.* 2020. V. 112. P. 147–158.
4. *Zaorsky N.G., Williams G.R., Barta S. et al.* Splenic irradiation for splenomegaly: a systematic review and meta-analysis // *Cancer Treat Rev.* 2017. V. 53. P. 47–52.
5. *Laiakis E.C., Shuryak I., Deziel A. et al.* Effects of low dose space radiation exposures on the splenic metabolome // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. P. 3070–3086.
6. *Gaziev A.I., Podlitsky A.J., Panfilov B. et al.* Biologically active antioxidant supplements reduce the frequency of hprt mutations in the splenocytes of aging mice // *Mutat. Res.* 1995. V. 338. P. 77–86.
7. *Ushakova T., Melkonyan H., Nikonova L. et al.* Modification of gene expression by dietary antioxidants in ra-

- diation-induced apoptosis of mice splenocytes // *Free Radical Biol. & Med.* 1999. V. 26. № 7–8. P. 887–891.
8. Zhang X., Liu H., Xing X. et al. Ionizing radiation induces ferroptosis in splenic lymphocytes of mice // *Int. J. Radiat. Res.* 2021. V. 19. P. 99–111.
  9. Gurunathan S., Qasim M., Kang M.H. et al. Role and therapeutic potential of melatonin in various type of cancers // *Onco Targets Ther.* 2021. V. 18. P. 2019–2052.
  10. Moloudizargari M., Moradkhani F., Hekmatirad S. et al. Therapeutic targets of cancer drugs: modulation by melatonin // *Life Sci.* 2021. V. 267. 118934.
  11. Chin A.L., Aggarwal S., Pradhan P. et al. The role of bone marrow and spleen irradiation in the development of acute hematologic toxicity during chemoradiation for esophageal cancer // *Adv. Radiat. Oncol.* 2018. V. 3. P. 297–304.
  12. Choudharya S., Kumara A., Sahac N. et al. PK-PD based optimal dose and time for orally administered suprapharmacological dose of melatonin to prevent radiation induced mortality in mice // *Life Sci.* 2019. V. 219. P. 31–39.
  13. Furda A., Santos J.H., Meyer J. et al. Quantitative PCR-based measurement of nuclear and mitochondrial DNA damage and repair in mammalian cells // *Meth. Mol. Biol.* 2014. V. 1105. P. 419–437.
  14. Abdullaev S., Gubina N., Bulanova T. et al. Assessment of nuclear and mitochondrial DNA, expression of mitochondria-related genes in different brain regions in rats after whole-body X-ray irradiation // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. 1196.
  15. Buege J.A., Aust S.D. Microsomal lipid peroxidation // *Meth. Enzymol.* 1978. V. 52. P. 302–310.
  16. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups // *Arch. Biochem. Biophys.* 1959. V. 8. P. 70–77.
  17. Schmid W. The micronucleus test // *Mutat. Res.* 1975. V. 31. P. 9–15.
  18. Williams J.P., Brown S.L., Georges G.E. et al. Animal models for medical countermeasures to radiation exposure // *Radiat. Res.* 2010. V. 173. P. 557–578.
  19. Tan D.-X., Chen L.D., Poeggeler B. et al. Melatonin: a potent, endogenous hydroxyl radical scavenger // *Endocrine J.* 1993. V. 1. P. 57–60.
  20. Vijayalaxmi, Reiter R.J., Sewerynek E. et al. Marked reduction of radiation-induced micronuclei in human blood lymphocytes pretreated with melatonin // *Radiat. Res.* 1995. V. 143. P. 102–106.
  21. Vijayalaxmi, Reiter R.J., Herman T.S. et al. Melatonin and radioprotection from genetic damage: in vivo/in vitro studies with human volunteers // *Mutat. Res. Genet. Toxicol.* 1996. V. 371. P. 221–228.
  22. Vijayalaxmi, Meltz M.L., Reiter R.J. et al. Melatonin and protection from whole-body irradiation: survival studies in mice // *Mutat. Res. Fundam. Mol. Mech. Mutagen.* 1999. V. 425. P. 21–27.
  23. Vijayalaxmi, Reiter R.J., Tan D.-X. et al. Melatonin as a radioprotective agent: a review // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2004. V. 59. P. 639–653.
  24. Pikalova L.V., Legeza V.I., Ivanov M.B. et al. Experimental study of cytoprotective effect of melatonin in radiation exposure // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2011. V. 152. P. 76–78.
  25. Galano A., Tan D.-X., Reiter R.J. Melatonin: a versatile protector against oxidative DNA damage // *Molecules.* 2018. V. 23. P. 530.
  26. Eskandari A., Mahmoudzadeh A., Shirazi A. et al. Melatonin a promising candidate for DNA double-stranded breaks reduction in patients undergoing abdomen-pelvis computed tomography examinations // *Anticancer Agents Med. Chem.* 2020. V. 2. P. 859–864.
  27. Esmaily F., Mahmoudzadeh A., Cheki M. et al. The radioprotective effect of melatonin against radiation-induced DNA double-strand breaks in radiology // *J. Cancer Res. Ther.* 2020. V. 16. P. 59–63.
  28. Jafarpour S.M., Shekarchi B., Bagheri H. et al. The radioprotective effects of melatonin and nanoselenium on DNA double-strand breaks in peripheral lymphocytes caused by I131 // *Indian J. Nucl. Med.* 2021. V. 36. P. 134–139.
  29. Sies H., Jones D.P. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signaling agents // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2020. V. 21. P. 363–383.
  30. Buvelot H., Jaquet V., Krause K.-H. Mammalian NADPH Oxidases // *Methods Mol. Biol.* 2019. V. 1982. P. 17–36.
  31. Sun L., Inaba Y., Sogo Y. et al. Total body irradiation causes a chronic decrease in antioxidant levels // *Sci. Rep.* 2021. V. 11. 6716.
  32. Sun L., Inaba Y., Sato K. et al. Dose-dependent decrease in antioxidant capacity of whole blood after irradiation: a novel potential marker for biodosimetry // *Sci. Rep.* 2018. V. 8. P. 7425.
  33. Chin A.L., Aggarwal S., Pradhan P. et al. The role of bone marrow and spleen irradiation in the development of acute hematologic toxicity during chemoradiation for esophageal cancer // *Adv. Radiat. Oncol.* 2018. V. 3. P. 297–304.
  34. Sommer S., Buraczewska I., Kruszewski M. Micronucleus assay: The state of art, and future directions // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. P. 1534.
  35. Rostami A., Moosavi S.A., Moghadam H.D. et al. Micronuclei assessment of the radioprotective effects of melatonin and vitamin C in human lymphocytes // *Cell J.* 2016. V. 18. № 1. P. 46–51.
  36. Amini P., Ashrafizadeh M., Motevaseli E. et al. Mitigation of radiation-induced hematopoietic system injury by melatonin // *Environ. Toxicol.* 2020. V. 35. № 8. P. 815–821.
  37. Najafi M., Shirazi A., Motevaseli E. et al. The melatonin immunomodulatory actions in radiotherapy // *Biochem. Phys. Rev.* 2017. V. 9. P. 139–148.
  38. Markus R.P., Sousa K.S., Machado S.C. et al. Possible role of pineal and extra-pineal melatonin in surveillance, immunity, and first-line defense // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. V. 22. 12143.

## Melatonin Reduces Radiation Damage to the Spleen and Increases Survival when Administered Before and after Exposure to X-Ray Radiation in Mice

S. A. Abdullaev<sup>a,b,#</sup>, S. I. Glukhov<sup>a</sup>, and **A. I. Gaziev<sup>a</sup>**

<sup>a</sup> *Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia*

<sup>b</sup> *SSC A.I. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center of the FMBA of Russia, Moscow, Russia*

<sup>#</sup> *E-mail: saabdullaev@gmail.com*

Damage to the spleen of mice was studied after irradiation of their whole body with X-rays at a dose of 5 Gy and modulation of these damages by the administration of melatonin (MEL). At the same time, the effect of MEL on the survival of mice irradiated at doses of 5 and 9 Gy was determined. At the same time, damage and repair of nuclear DNA, levels of malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH) and the frequency of micronucleus induction in mouse bone marrow cells were assessed. The results showed that in the spleen of MEL-treated mice, post-irradiation DNA repair is more active than in the control groups. At the same time, the effect of MEL modulation is more pronounced in the tissues of mice that were injected with MEL after irradiation. The levels of MDA are sharply reduced in the spleen of mice injected with MEL, while the content of GSH is significantly increased. In irradiated mice injected with MEL, a decrease in the frequency of micronuclei is also observed. Survival results in mice showed that MEL provided effective protection against X-ray exposure. The observed radiation protection of MEL is more pronounced when it is administered to mice after their irradiation at doses of 5 and 9 Gy. Thus, MEL reduces radiation damage to the spleen and increases the survival rate of mice when it is administered before and after their irradiation.

**Keywords:** spleen, melatonin, radioprotector, radiomitigator, DNA repair, malondialdehyde, glutathione, micronuclei, survival of mice

---

---

**НЕИОНИЗИРУЮЩИЕ  
ИЗЛУЧЕНИЯ**

---

---

УДК 577.325:577.15:614.875

**ХИТОЗАН И СУКЦИНАТ ХИТОЗАНА КАК ФОТОПРОТЕКТОРЫ  
ДЛЯ ИММОБИЛИЗОВАННОГО НА ИХ МАТРИЦЕ ПАПАИНА**© 2022 г. М. Г. Холявка<sup>1,2,\*</sup>, С. М. Панкова<sup>1,3</sup>, Ю. М. Вышкворкина<sup>4</sup>, А. Н. Лукин<sup>1</sup>,  
М. С. Кондратьев<sup>5</sup>, В. Г. Артюхов<sup>1</sup><sup>1</sup> Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия<sup>2</sup> Севастопольский государственный университет, Севастополь, Россия<sup>3</sup> Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия<sup>4</sup> Московский физико-технический институт, Москва, Россия<sup>5</sup> Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

\*E-mail: holyavka@rambler.ru

Поступила в редакцию 26.01.2022 г.

После доработки 25.06.2022 г.

Принята к публикации 29.06.2022 г.

Установлено, что УФ-излучение в дозах 453–6040 Дж/м<sup>2</sup> приводит к снижению удельной активности свободного папаина. Адсорбционная иммобилизация на матрице среднемолекулярного (200 кДа), высокомолекулярного (350 кДа), пищевого (<100 кДа) хитозанов и сукцината хитозана способствует повышению стабильности молекул папаина по отношению к УФ-облучению в диапазоне доз до 6040 Дж/м<sup>2</sup> по сравнению со свободным энзимом. Изменения, зарегистрированные в ИК-спектрах иммобилизованного папаина, практически не затрагивают полосы, обусловленные белковым компонентом системы: амид I, амид II, амид III, следовательно, можно признать фотопротекторный эффект матриц хитозана и сукцината хитозана для иммобилизованного на них папаина. Полученные результаты могут быть полезны для фармакологии и медицины при разработке препаратов, способствующих ускоренному заживлению кожных покровов, а также при подборе условий стерилизации УФ-светом лекарственных препаратов, содержащих папаин.

**Ключевые слова:** УФ-облучение, адсорбционная иммобилизация, включение в гель, папаин, хитозан, сукцинат хитозана

**DOI:** 10.31857/S086980312205006X

Ультрафиолетовое (УФ) излучение – постоянно действующий фактор, который может влиять на живые организмы как на клеточном, так и на молекулярном уровне. Это излучение оказывает как положительные, так и негативные эффекты на биообъекты, поэтому особый интерес представляет изучение механизмов действия УФ-света и перспектив его применения в медицинской практике [1, 2].

УФ-излучение имеет волновую природу и на шкале электромагнитных волн находится в диапазоне от 10 нм до 380 нм. Облучение УФ-светом в диапазоне волн 200–380 нм вызывает электронные переходы с нижних энергетических уровней молекул на верхние, и таким образом запускаются первичные механизмы фотобиологических процессов, например, в белках первичной фотохимической реакцией является фотоионизация ароматических аминокислот или фотодиссоциация -S-S-связи цистина. При этом образуются

свободные радикалы и запускается каскад реакций, заканчивающихся нарушением структуры молекулы и изменением каталитической активности фермента [3, 4].

Папаин (КФ 3.4.22.2) относится к моноиоловым цистеиновым эндопротеазам, содержащимся в плодах папайи (*Carica papaya*). Молекула фермента массой 23–25 кДа состоит из 212 аминокислотных остатков, где N-концевым остатком является изолейцин, C-концевым остатком – аспарагин. В медицине и фармакологии энзим нашел применение благодаря своим противовоспалительным и антиоксидантным эффектам, а также бактерицидным и бактериостатическим свойствам [5–9].

Использование растворимой формы ферментов имеет свои недостатки, одним из которых является их быстрая инактивация за счет протеолиза [10, 11]. В настоящее время для повышения стабильности ферментов широко применяется

метод иммобилизации на различных полимерных носителях [12, 13]. К известным способам стабилизации структуры папаина относятся: ковалентная иммобилизация, взаимодействие с ионом металла, сополимеризация с помощью глутарового альдегида, иммобилизация в агарозе, ковалентное связывание с полиэфирсульфоном, модификация янтарным ангидридом, простая адсорбция в Celite®, ионная адсорбция на КМ-целлюлозе (катионит) и QAE-Sephadex® (анионит) [14–16], включение в гель на основе крахмала [17], включение в нитриловое волокно, обогащенное аминогруппами [18], иммобилизация на поверхность хлопчатобумажной ткани [19], сепфарозу [20], наночастицы [21–23], включение в ниосомы, наносферы, липосомы [24–26].

Среди множества носителей для иммобилизации энзимов перспективными являются хитозаны и их производные. По химической структуре хитозан является сополимером *D*-глюкозамина и *N*-ацетил-*D*-глюкозамина. Полимер проявляет слабоосновные свойства:  $pK_a = 6,5$ , что близко к значению  $pK_a$  остатков *D*-глюкозамина. Молекула хитозана содержит большое количество свободных аминогрупп, благодаря которым определяется его способность связывать ионы водорода и приобретать избыточный положительный заряд. Таким образом, полимер является универсальным сорбентом для широкого спектра веществ органической и неорганической природы, в том числе и ферментов. Сукцинат хитозана представляет собой соль деацетилизованного хитина и янтарной кислоты. Он хорошо растворим в воде, его деацетилированные и замещенные группы при значениях  $pH < 7$  приобретают положительный заряд, т.е. хитозановый гель представляет собой поликатион, который соответственно связывается с отрицательно заряженными молекулами [31–37].

При создании медицинских препаратов учитываются такие свойства хитозанов и их производных, как высокая биологическая совместимость, низкая токсичность. Хитозан был протестирован как носитель для фотосенсибилизаторов типа порфирина. Полисахарид эффективно предотвращал фотодegradацию их макроциклов [38]. Тонкие пленки и пористые структуры, полученные из хитозана, используются при трансплантации клеток и регенерации тканей. В фармации и медицине полимер применяется в составе средств для лечения заболеваний костей и хирургических швов [39–41]. УФ-облучение может оказывать модифицирующий эффект на свойства хитозана несмотря на то, что сам хитозан не имеет полос поглощения в области 220–500 нм [42].

Таким образом, целью нашей работы было изучить особенности воздействия УФ-излучения

на процессы фотомодуляции папаина, свободного и иммобилизованного на матрицах хитозана и сукцината хитозана.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

В качестве объекта исследования был выбран папаин фирмы “Sigma-Aldrich”, субстратом для гидролиза служил бычий сывороточный альбумин (БСА) фирмы “Sigma-Aldrich”, носителями для иммобилизации – хитозаны, синтезированные ЗАО “Биопрогресс”: хитозан пищевой кислоторастворимый среднемолекулярный ( $M_r = 200$  кДа), хитозан кислоторастворимый высокомолекулярный ( $M_r = 350$  кДа), хитозан пищевой ( $M_r < 100$  кДа) и сукцинат хитозана.

Иммобилизацию папаина на матрице хитозанов осуществляли адсорбционным методом. К 1 г хитозана добавляли 20 мл раствора фермента в концентрации 1 мг/мл в 0.05 моль/л глициновом буфере ( $pH$  9.0), инкубировали в течение 4 ч с периодическим перемешиванием для среднемолекулярного хитозана, а при использовании высокомолекулярного хитозана время сорбции составляло 5 ч. Суспензию центрифугировали при 1500 г в течение 10 мин. Образовавшийся осадок промывали 0.05 моль/л трис-НСI буфером ( $pH$  7.5) до отсутствия в промывных водах белка (контроль осуществляли на спектрофотометре СФ-2000 при  $\lambda = 280$  нм).

Иммобилизацию папаина за счет включения в гель проводили следующим образом: к 1 г хитозана добавляли 20 мл раствора фермента в концентрации 1 мг/мл в 0.05 моль/л глициновом буфере ( $pH$  10.0), инкубировали в течение 2 ч. После окончания инкубации образовавшийся осадок (в виде геля) промывали 0.05 моль/л трис-НСI буфером ( $pH$  7.5) до отсутствия в промывных водах белка (контроль осуществляли на спектрофотометре СФ-2000 при  $\lambda = 280$  нм). Определение количества белка в препаратах и активности фермента проводили модифицированным методом Лоури [43].

Перед облучением к образцам фермента добавляли 0.05 моль/л фосфатный буфер с  $pH$  6.8 в соотношении 1 мг/мл для свободного и 50 мг/мл (что эквивалентно 1 мг/мл по белковой составляющей) для иммобилизованного на хитозане папаина. Процесс УФ-облучения происходил при непрерывном перемешивании соответственно раствора суспензии геля в объеме 4 мл (толщина слоя в середине кюветы 7 мм) магнитной мешалкой в круглодонной термостатируемой кювете ( $20 \pm 1^\circ C$ ) с помощью ртутно-кварцевой лампы типа ДРТ-400 через светофильтр УФС-1 с полосой пропускания 240–390 нм в течение 1, 3, 5, 10,

20, 30, 40 мин. Доза облучения составила соответственно 151, 453, 755, 1510, 3020, 4530 и 6040 Дж/м<sup>2</sup>.

Регистрацию ИК-спектров анализируемых образцов осуществляли в Центре коллективного пользования научным оборудованием Воронежского государственного университета с помощью ИК-Фурье спектрометра Bruker Vertex-70 (Германия). Спектры снимали с неориентированных порошковых образцов, которые получали после УФ-облучения иммобилизованного папаина путем высушивания препаратов при комнатной температуре и измельчения до состояния пудры.

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

Модели структур хитозана и сукцината хитозана были нарисованы в молекулярном конструкторе NuregChem, последовательно оптимизированы сначала в силовом поле AMBER, а потом квантово-химически в PM3. Лиганд в расчетах докинга имел максимальную конформационную свободу: допускалось вращение функциональных групп вокруг всех одинарных связей. Расстановка зарядов на молекуле лиганда и ее протонирование/депротонирование осуществлялись автоматически в пакете MGLTools 1.5.6.

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

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После воздействия дозы УФ-света 453 Дж/м<sup>2</sup> на раствор папаина выявлено снижение каталитической способности энзима на 32% по сравнению с контрольным (необлученным) образцом. При повышении дозы облучения от 755 до 6040 Дж/м<sup>2</sup> фермент сохранял свою активность на относительно постоянном уровне 65–75% от первоначального значения.

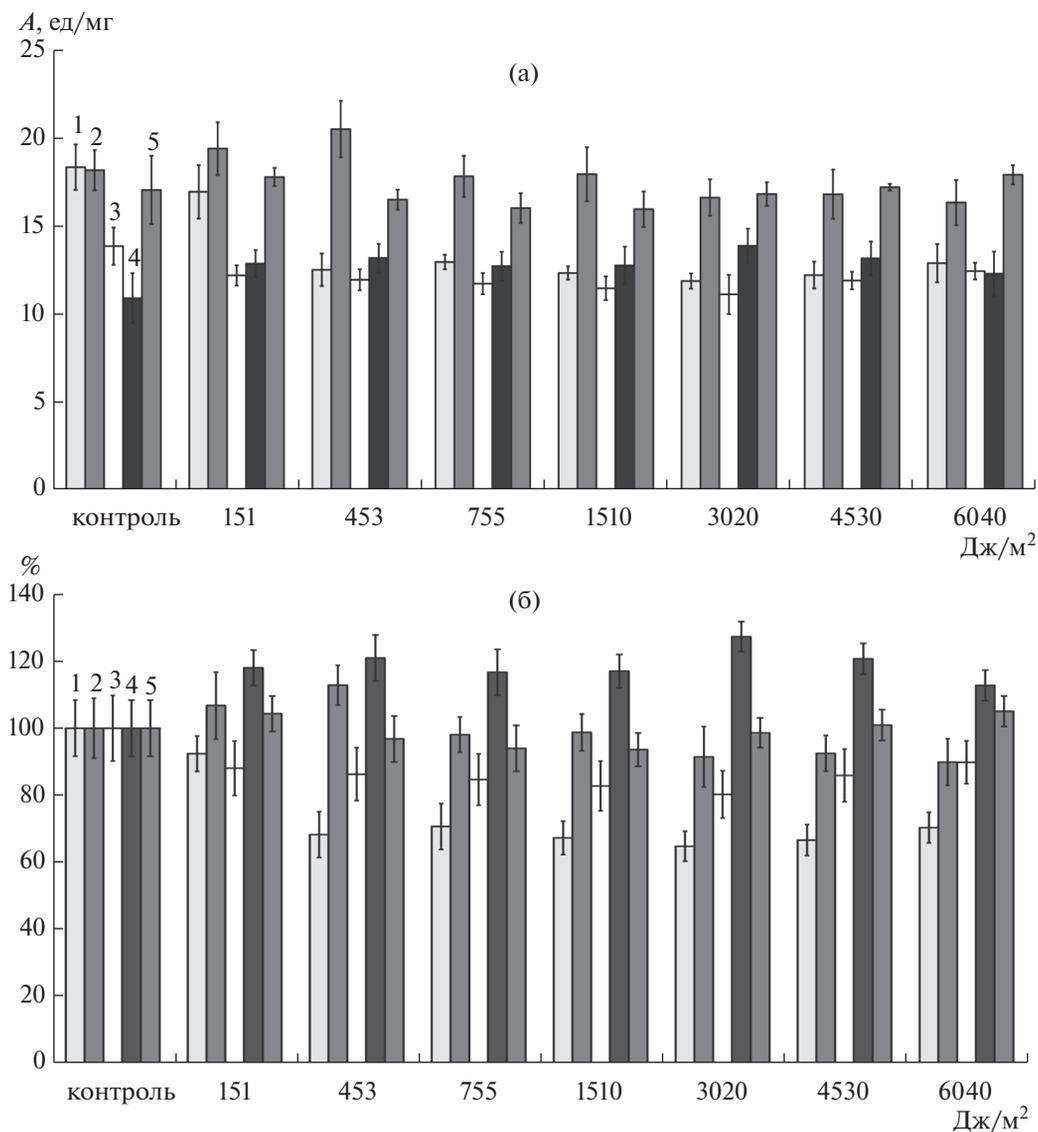
После иммобилизации папаина на матрице среднемолекулярного (200 кДа) и высокомолекулярного (350 кДа) хитозанов и после включения в гель пищевого хитозана (<100 кДа) и сукцината хитозана при воздействии доз от 151 до 6040 Дж/м<sup>2</sup> каталитическая способность фермента изменялась в меньшей степени, чем у его растворимой

формы. В частности, после адсорбции на среднемолекулярном хитозане при воздействии УФ-света во всем изучаемом нами диапазоне доз активность папаина колебалась в пределах ~5%, а при облучении УФ-светом энзима, сорбированного на высокомолекулярном хитозане, активность биокатализатора даже увеличивалась на 13–27% от первоначального уровня, вероятно, за счет “удачного” изменения конформации глобулы и повышения доступности активных центров молекул папаина для субстрата БСА. При включении папаина в гель пищевого хитозана его активность сначала увеличивалась на 7–13% при облучении дозами 151–453 Дж/м<sup>2</sup>, а при повышении дозы облучения немного снижалась, достигая ~90% при дозе 6040 Дж/м<sup>2</sup>. После включения фермента в гель сукцината хитозана его каталитическая способность оставалась на уровне 80–90% во всем диапазоне используемых нами доз (рис. 1).

Известно, что за функционально активное поглощение УФ-света белковыми молекулами ответственны хромофорные группы, представляющие собой остатки ароматических аминокислот: прежде всего триптофана, в значительно меньшей степени тирозина и фенилаланина, а также цистина [44]. Механизм действия УФ-излучения на молекулы папаина достаточно сложный. По данным К. Дозе (1972), не очевидна простая корреляция между потерей активности фермента и разрушением любого аминокислотного остатка-хромофора для трех длин волн – 254, 280 и 313 нм. Установлено, что относительно низкая реакционная способность трех остатков цистина обусловлена сильным стабилизирующим действием нековалентных связей, а не маскированием остатков цистина другими группами [45].

Активный центр папаина расположен на границе L и R-доменов в V-образной расщелине и образован цистеином (Cys25), гистидином (His159), аспарагином (Asn175) и остатком глутамина (Gln19), которые консервативны для всех папаин-подобных протеаз [46, 47]. Trp177, который наряду с Cys25 является хромофором для УФ-света, хотя и не входит в состав активного центра папаина, но участвует в генерации нуклеофильного характера ионной пары Cys25/His159 [48]. J.F. Baugher (1975) показал существенный вклад фотоионизации остатка Trp 177 в процессы инактивации папаина [49].

Более высокую устойчивость к действию УФ-излучения иммобилизованного на хитозане папаина можно объяснить следующим образом: в процессе его связывания с матрицей носителя принимают участие три аминокислотных остатка – хромофора для УФ-света: Tyr61, Cys63 и Tyr67. При включении папаина в гель сукцината хитозана связи и взаимодействия формируются со сле-

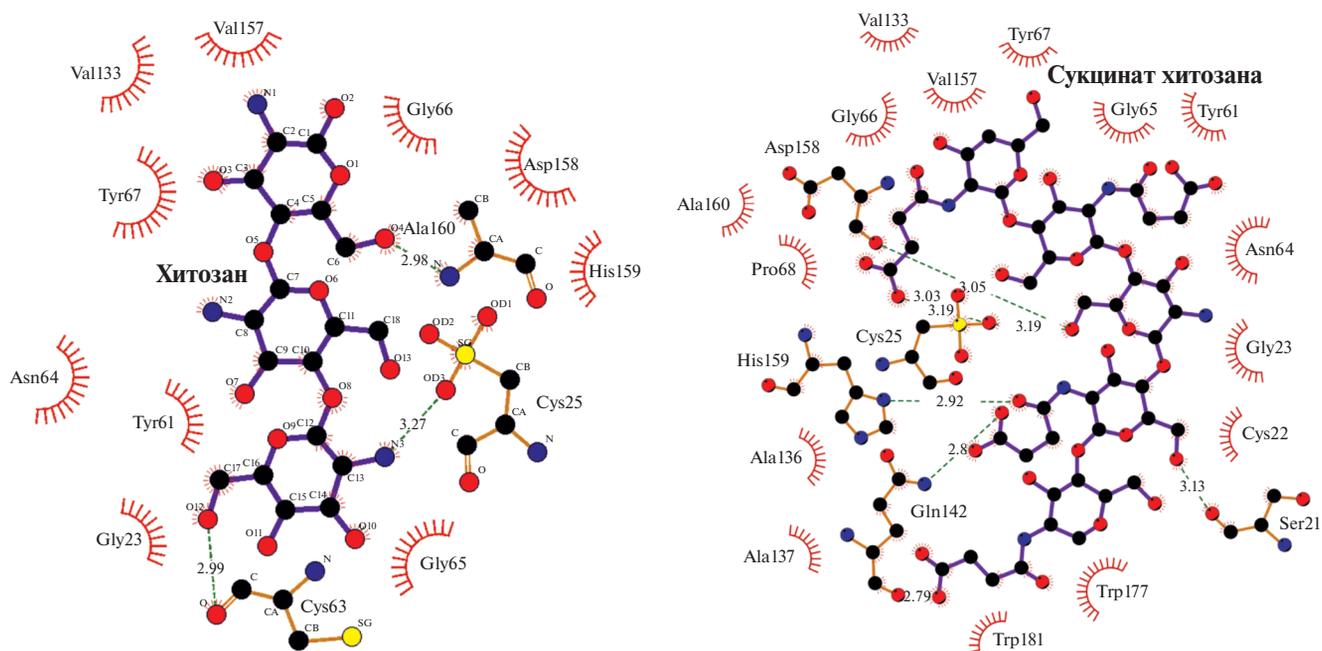


**Рис. 1.** Влияние УФ-излучения на удельную каталитическую активность (ед/мг) папаина (а) и ее изменение в процентах (б): 1 – свободный фермент, 2 – иммобилизованный путем включения в гель пищевого хитозана, 3 – иммобилизованный путем включения в гель сукцината хитозана, 4 – иммобилизованный на среднемoleкулярном хитозане, 5 – иммобилизованный на высокомолекулярном хитозане. За 100% принята активность свободного и иммобилизованного папаина, измеренная у образцов, не подвергнутых воздействию УФ-излучения.

**Fig. 1.** Effect of UV radiation on the specific catalytic activity (U/mg) of papain (a) and its change in percentage (b): 1 – free enzyme, 2 – immobilized by including in the gel of food chitosan, 3 – immobilized by including in the gel of chitosan succinate, 4 – immobilized on medium molecular weight chitosan, 5 – immobilized on high molecular weight chitosan. The activity of free and immobilized papain was taken as 100%, measured on samples not exposed to UV radiation.

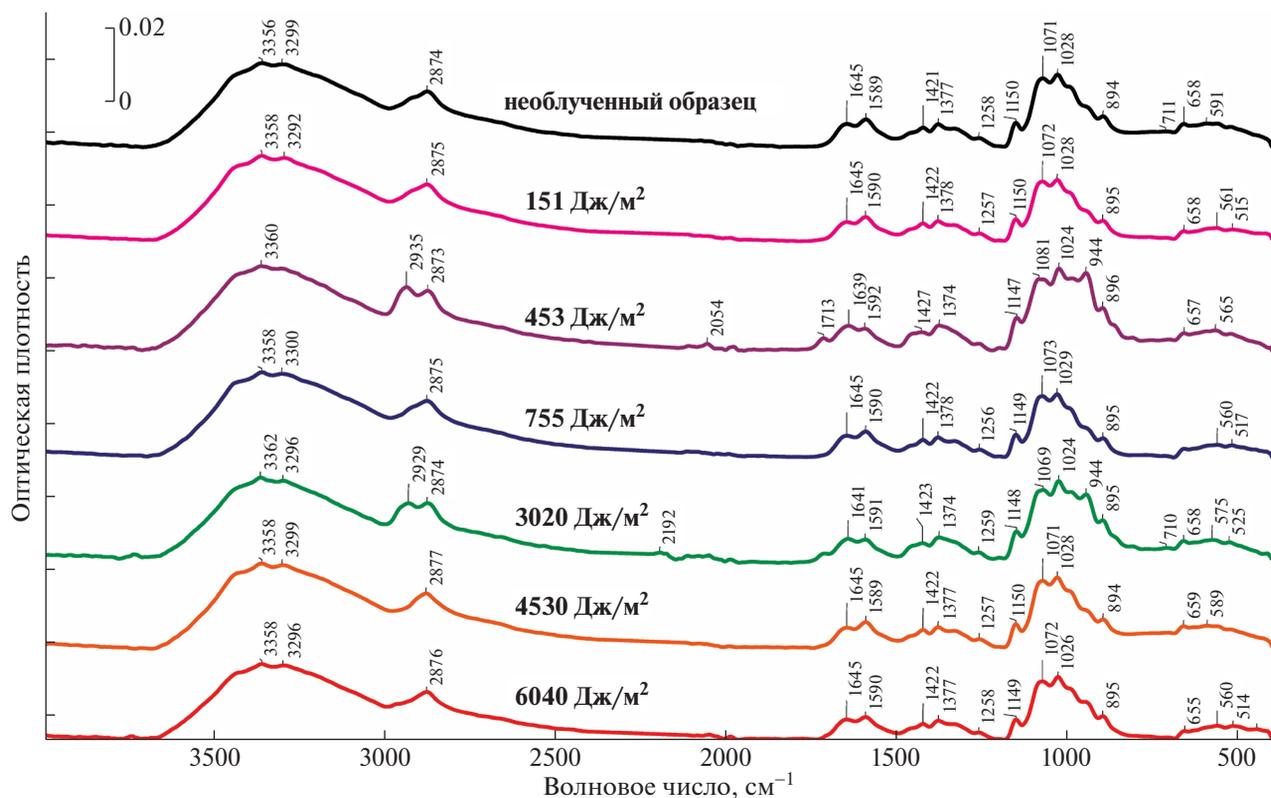
дующими хромофорами: Cys22, Tyr61, Tyr67, Trp177, Trp181. Кроме того, два остатка из активного центра папаина Cys25 и His159 также задействованы в процессах иммобилизации энзима на хитозане и сукцината хитозана, что объясняет снижение каталитической активности фермента после иммобилизации и повышение его устойчивости к действию УФ-излучения (рис. 2).

Для более полного обсуждения наблюдаемых эффектов мы зарегистрировали ИК-спектры папаина, свободного и иммобилизованного на матрице среднемoleкулярного (200 кДа), высокомолекулярного (350 кДа), пищевого (<100 кДа) хитозанов и сукцината хитозана, до и после облучения образцов УФ-светом в дозах 151, 453, 755, 1510, 3020, 4530 и 6040 Дж/м<sup>2</sup> (рис. 3–6).



**Рис. 2.** Связи (обозначены пунктирными линиями с указанием длины в Å) и взаимодействия между молекулой папаина и матрицами хитозана и сукцината хитозана, возникающие в ходе иммобилизации фермента.

**Fig. 2.** Bonds (indicated by dotted lines with lengths in Å) and interactions between the papain molecule and matrices of chitosan and chitosan succinate forming during the enzyme immobilization.



**Рис. 3.** ИК-спектры папаина, иммобилизованного на матрице среднемoleкулярного (200 кДа) хитозана, до и после УФ-облучения в диапазоне доз 151–6040 Дж/м<sup>2</sup>.

**Fig. 3.** IR spectra of papain immobilized on a matrix of the medium molecular weight (200 kDa) chitosan before and after UV irradiation in the dose range of 151–6040 J/m<sup>2</sup>.

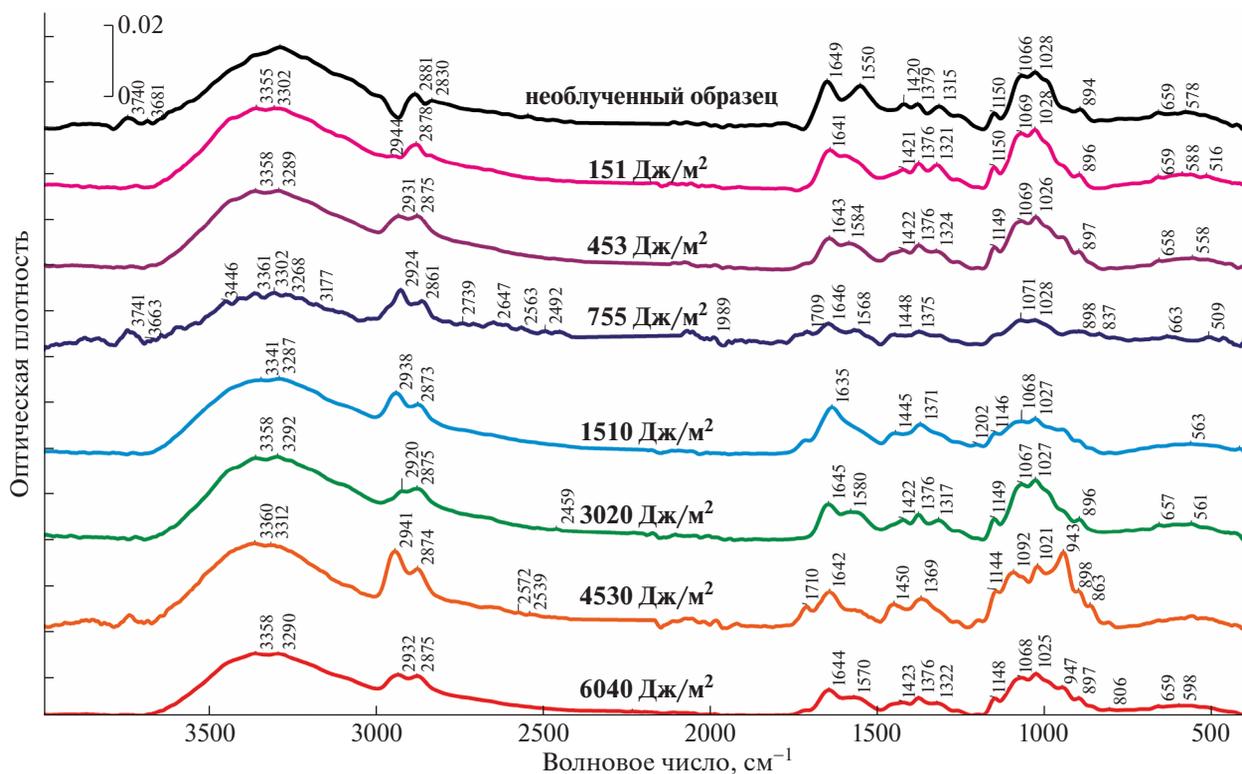


Рис. 4. ИК-спектры папаина, иммобилизованного на матрице высокомолекулярного (350 кДа) хитозана, до и после УФ-облучения в диапазоне доз 151–6040 Дж/м<sup>2</sup>.

Fig. 4. IR spectra of papain immobilized on a matrix of the high molecular weight (350 kDa) chitosan before and after UV irradiation in the dose range of 151–6040 J/m<sup>2</sup>.

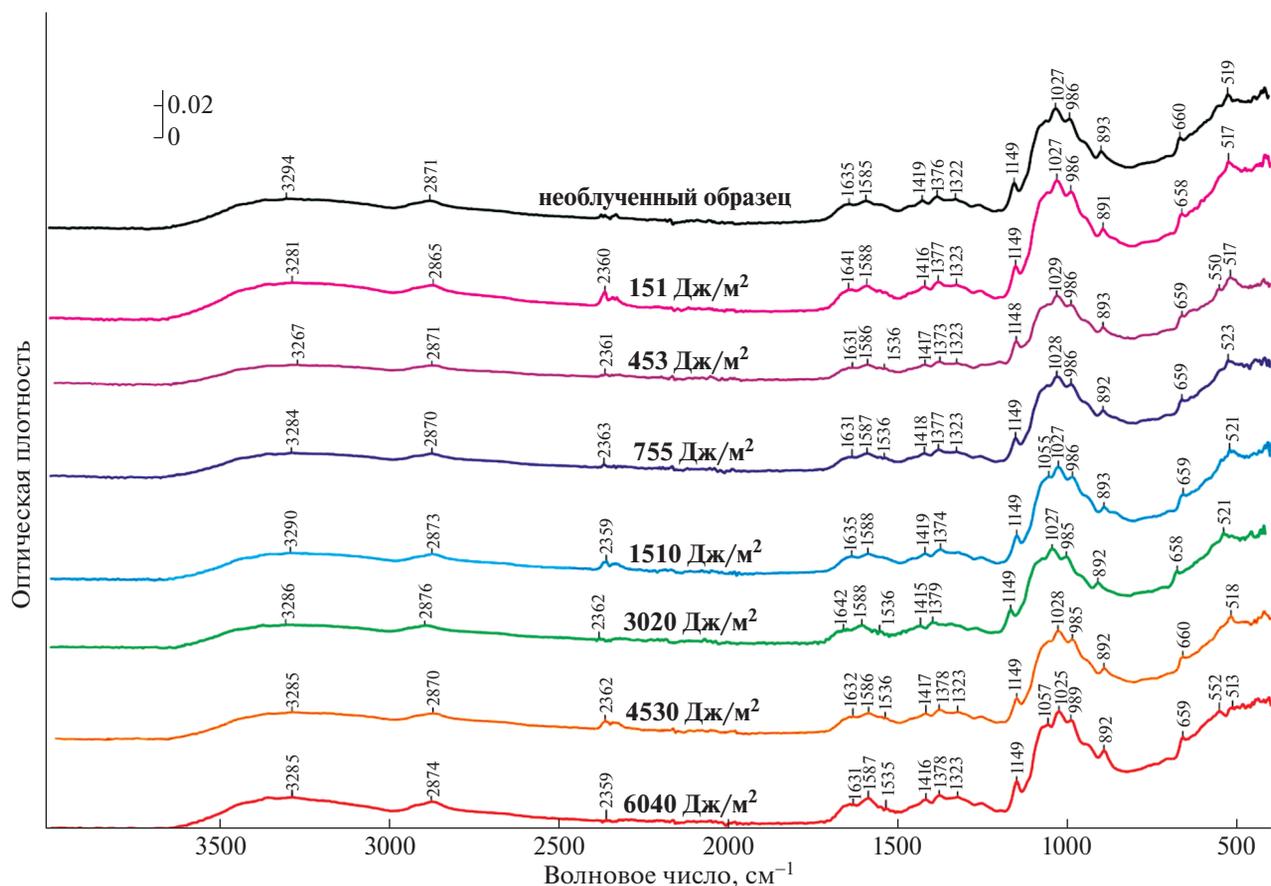
Характеристика полос ИК-спектров папаина и хитозана представлена в табл. 1 [50–53].

После иммобилизации папаина на матрице среднемолекулярного хитозана существенных

Таблица 1. Характерные полосы поглощения на ИК-спектрах папаина и хитозана

Table 1. Characteristic absorption bands in the IR spectra of papain and chitosan

Полосы поглощения в спектре свободного папаина, см <sup>-1</sup>	Характеристика	Полосы поглощения в спектре хитозана, см <sup>-1</sup>	Характеристика
3450–3225	Обусловлена растяжением связи N–H вторичного N-замещенного амида	3600–3100	Обусловлена колебаниями N–H, O–H связей
2981	Обусловлена растяжением связи C–H	3100–2800	Вызвана растяжением C–H связей
1650	Вызвана C=O-растяжением карбоксильной группы	1635–1630	Вызвана колебаниями C–N, N–H связей
1600–1500	Обусловлена наличием C–C-связей	1558–1550	Обусловлена колебаниями C–N, N–H связей
1429 и 1321	Вызваны деформацией C–H в алкильных радикалах аминокислотных остатков	1409–1406 и 1379–1316	Вызваны деформационными колебаниями O–H и C–H в пирроновом кольце
868 и 850	Связаны с процессами деформации ароматического кольца остатков триптофана и тирозина	1200–1000	Обусловлена растяжением C–O–C связей
1150–1050 и 705–570	Обусловлены наличием C–S связей		



**Рис. 5.** ИК-спектры папаина, иммобилизованного путем включения в гель пищевого (<100 кДа) хитозана, до и после УФ-облучения в диапазоне доз 151–6040 Дж/м<sup>2</sup>.

**Fig. 5.** IR spectra of papain immobilized by incorporating into gel of food (<100 kDa) chitosan before and after UV irradiation in the dose range of 151–6040 J/m<sup>2</sup>.

изменений максимумов и интенсивности полос амид I (1690–1630 см<sup>-1</sup>), амид II (1560–1520 см<sup>-1</sup>), амид III (1250–1200 см<sup>-1</sup>) при УФ-облучении образцов во всем диапазоне используемых нами доз не происходит (рис. 3).

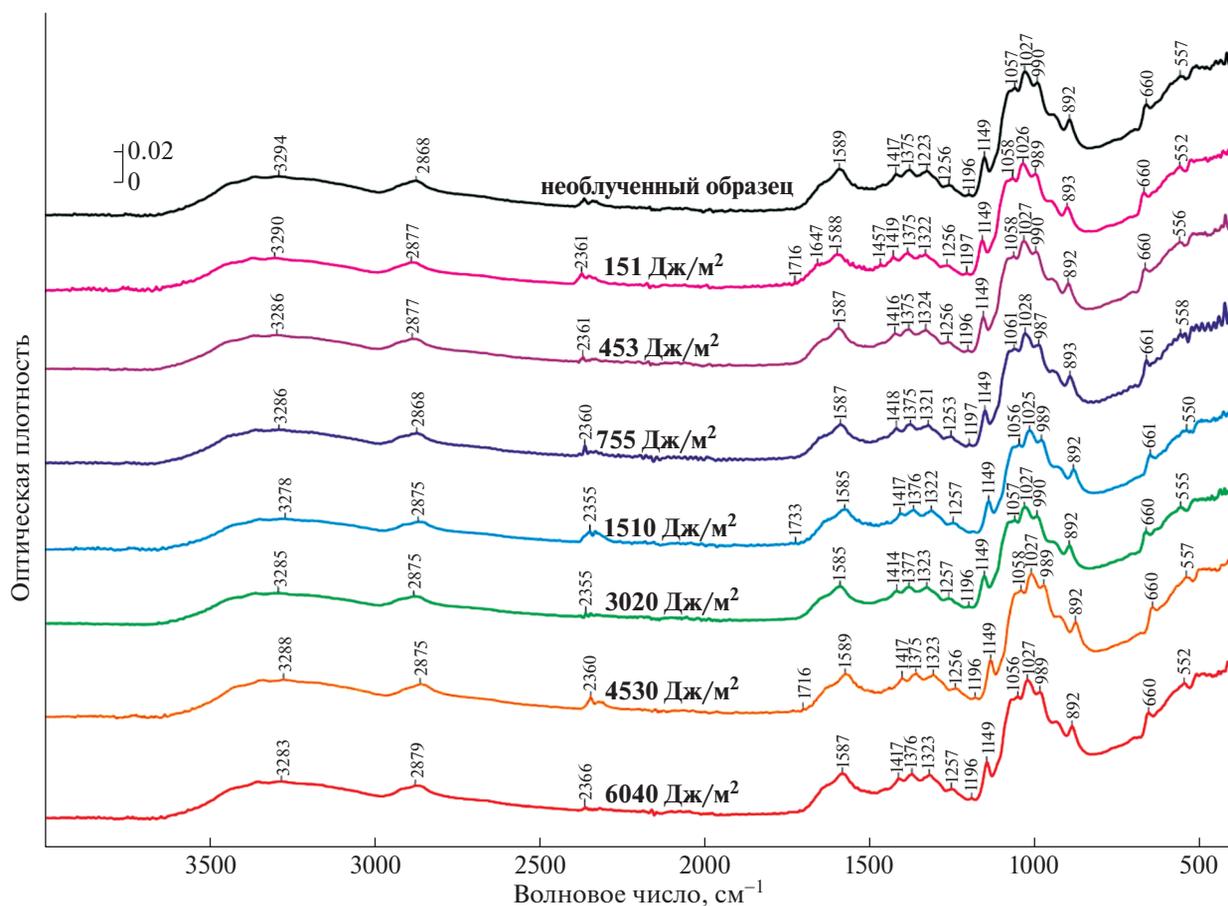
После УФ-облучения в ИК-спектрах папаина, иммобилизованного на высокомолекулярном хитозане, наблюдаются следующие модификации: смещение максимума от 1649 см<sup>-1</sup> (необлученный образец) в сторону уменьшения значений волновых чисел до 1644 см<sup>-1</sup> (после воздействия дозы 6040 Дж/м<sup>2</sup>) и небольшое снижение интенсивности полосы амид I (рис. 4).

После включения папаина в гель пищевого хитозана зарегистрировано смещение полосы 3294–3285 см<sup>-1</sup>, ответственной за NH<sub>2</sub>-валентные колебания, в сторону уменьшения значений волнового числа при облучении дозами 151–6040 Дж/м<sup>2</sup>. Выявлено смещение максимума при дозах 151 Дж/м<sup>2</sup> и 3020 Дж/м<sup>2</sup> от 1635 см<sup>-1</sup> (необлучен-

ный образец) до 1641 см<sup>-1</sup> и 1642 см<sup>-1</sup> соответственно (рис. 5).

После УФ-облучения в ИК-спектрах папаина, включенного в гель сукцината хитозана, выявлено смещение полосы 2868–2879 см<sup>-1</sup> (C<sub>sp3</sub>-H валентные колебания) в сторону увеличения значений волнового числа после облучения дозами 151–6040 Дж/м<sup>2</sup>. При дозах 151, 1510, 4530 Дж/м<sup>2</sup> появляются максимумы 1716, 1733, 1716 см<sup>-1</sup> соответственно (рис. 6).

Как видно из рис. 3–6, изменения в ИК-спектрах папаина, иммобилизованного путем адсорбции или включения в гель, практически не затрагивают полосы, обусловленные белковым компонентом системы: амид I, амид II, амид III. Поэтому можно констатировать, что матрицы хитозана и сукцината хитозана выступают в качестве фотопротектора для иммобилизованного на ней фермента.



**Рис. 6.** ИК-спектры папаина, иммобилизованного путем включения в гель сукцината хитозана, до и после УФ-облучения в диапазоне доз 151–6040 Дж/м<sup>2</sup>.

**Fig. 6.** IR spectra of papain immobilized by incorporating into the gel chitosan succinate before and after UV irradiation in the dose range of 151–6040 J/m<sup>2</sup>.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Действие УФ-излучения в дозе 453 Дж/м<sup>2</sup> способствует снижению каталитической активности свободного папаина. Иммобилизация на матрице средномолекулярного (200 кДа), высокомолекулярного (350 кДа), пищевого (<100 кДа) хитозанов и сукцината хитозана приводит к повышению стабильности структуры молекул биокатализатора по отношению к УФ-облучению по сравнению со свободным папаином. Матрицы хитозана и сукцината хитозана, вероятно, играют роль фотопротектора для иммобилизованного на ней фермента.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 21-74-20053.

Результаты исследований получены на оборудовании ЦКПНО ВГУ.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Кисткин А.И.* Эффективность озонотерапии и АУФОК в комплексном лечении больных с посттравматическими гнойно-воспалительными осложнениями: Дис. ... канд. мед. наук. Саранск, 2009. 111 с. [*Kistkin A.I.* Effektivnost' ozonoterapii i AUFOK v kompleksnom lechenii bol'nyh s posttravmaticheskimi gnojno-vospalitel'nymi oslozhneniyami. [dissertation]. Saransk, 2009. 111 p. (In Russ.)]
2. *Алипов Н.В.* О клинической эффективности дальней длинноволновой УФ-терапии // Саратовский науч.-мед. журн. 2015. Т. 11. № 3. С. 431–434. [*Alipov N.V.* O klinicheskoy effektivnosti dal'nej dlinnovolnoy UF-terapii // Saratovskij nauchno-medicinskij zhurnal. 2015. V. 11. № 3. P. 431–434. (In Russ.)]
3. *Bintsis T., Litopoulou-Tzanetaki E., Robinson R.K.* Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry – a critical review // *J. Sci. Food Agric.* 2000. V. 80. № 6. P. 637–645. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000501\)80:6<637::AID-JSFA603>3.0.CO;2-1](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000501)80:6<637::AID-JSFA603>3.0.CO;2-1)

4. *Mohr H., Gravemann U., Bayer A., Müller T.H.* Sterilization of platelet concentrates at production scale by irradiation with short-wave ultraviolet light // *Transfusion*. 2009. V. 49. P. 1956–1963. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2009.02228.x>
5. *Vij T., Prashar Y.* A review on medicinal properties of *Carica papaya* Linn // *Asian Pacific J. Tropic. Dis.* 2015. V. 5. № 1. P. 1–6. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60617-4](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60617-4)
6. *Aravind G., Debjit B., Duraivel S. Harish G.* Traditional and Medicinal Uses of *Carica papaya* // *J. Med. Plant. Stud.* 2013. V. 1. № 1. P. 7–15.
7. *Manosroi A., Chankhampan C., Pattamapun K. et al.* Antioxidant and gelatinolytic activities of papain from papaya latex and bromelain from pineapple fruits // *Chiang Mai J. Sci.* 2014. V. 41. № 3. P. 635–648.
8. *Ajlia S.A., Majid F.A., Suvik A. et al.* Efficacy of papain-based wound cleanser in promoting wound regeneration // *Pak. J. Biol. Sci.* 2010. V. 13. № 12. P. 596–603. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2010.596.603>
9. *Pratap K.M., Nandakumar K., Sambashivarao P., Sandhya P.S.* Chemo Mechanical Caries Removal – A New Horizon // *Ind. J. Dental Advancem.* 2011. V. 3. № 4. P. 668–672. <https://doi.org/10.5866/3.4.668>
10. *Klasen H.J.* A review on the nonoperative removal of necrotic tissue from burn wounds // *Burns*. 2000. V. 26. № 3. P. 207–222. [https://doi.org/10.1016/S0305-4179\(99\)00117-5](https://doi.org/10.1016/S0305-4179(99)00117-5)
11. *Thallinger B., Prasetyo E.N., Nyanhongo G.S., Guebitz G.M.* Antimicrobial enzymes: an emerging strategy to fight microbes and microbial biofilms // *Biotechnol.* 2013. V. 8. № 1. P. 97–109. <https://doi.org/10.1002/biot.201200313>
12. *Mogosanu G.D., Grumezescu A.M.* Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing // *Int. J. Pharmaceut.* 2014. V. 463. № 2. P. 127–136. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.12.015>
13. *Benucci I., Lombardelli C., Liburdi K. et al.* Immobilized native plant cysteine proteases: packed-bed reactor for white wine protein stabilization // *J. Food Sci. Technol.* 2015. V. 53. № 2. P. 1130–1139. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2125-4>
14. *Sim Y.C., Lee S.G., Lee D.C. et al.* Stabilization of Papain and Lysozyme for Application to Cosmetic Products // *Biotechnol. Lett.* 2000. V. 22. № 2. P. 137–140. <https://doi.org/10.1023/A:1005670323912>
15. *Li M., Su E., You P. et al.* Purification and In Situ Immobilization of Papain with Aqueous Two-Phase System // *PLoS One*. 2010. V. 5. № 12. P. e15168. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015168>
16. *Pinto C.A.S.O., Lopes P.S., Sarruf F.D. et al.* Comparative study of the stability of free and modified papain incorporated in topical formulations // *Brazil. J. Pharm. Sci.* 2011. V. 47. № 4. P. 751–760. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502011000400012>
17. *Sangeetha K., Abraham T.E.* Chemical modification of papain for use in alkaline medium // *J. Molec. Catal. B: Enzymatic*. 2006. V. 38. P. 171–177. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2006.01.003>
18. *Li F.Y., Xing Y., Ding X.* Immobilization of papain on cotton fabric by sol–gel method // *Enzyme Microbial. Technol.* 2007. V. 40. № 7. P. 1692–1697. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.09.007>
19. *Xue Y., Nie H., Zhu L. et al.* Immobilization of Modified Papain with Anhydride Groups on Activated Cotton Fabric // *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2010. V. 160. P. 109–121. <https://doi.org/10.1007/s12010-009-8588-x>
20. *Homaei A.A., Sajedi R.H., Sariri R. et al.* Cysteine enhances activity and stability of immobilized papain // *Amino Acids*. 2010. V. 38. P. 937–942. <https://doi.org/10.1007/s00726-009-0302-3>
21. *Moreno-Cortez I.E., Romero-Garda J., Gonzalez-Gonzalez V. et al.* Encapsulation and immobilization of papain in electrospun nanofibrous membranes of PVA cross-linked with glutaraldehyde vapor // *Mat. Sci. Engineering C*. 2015. V. 52. P. 306–314. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.03.049>
22. *Xin B., Si S.F., Xing G.W.* Protease immobilization on  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles for the synthesis of oligopeptides in organic solvents // *Chemistry – An Asian J.* 2010. V. 5. № 6. P. 1389–1394. <https://doi.org/10.1002/asia.200900696>
23. *Muller C., Perera G., Konig V., Bernkop-Schnurch A.* Development and in vivo evaluation of papain-functionalized nanoparticles // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2014. V. 87. № 1. P. 125–131. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2013.12.012>
24. *Manosroi A., Chankhampan C., Manosroi W., Manosroi J.* Transdermal absorption enhancement of papain loaded in elastic niosomes incorporated in gel for scar treatment // *Eur. J. Pharm. Sci.* 2013. V. 48. № 3. P. 474–483. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2012.12.010>
25. *Manosroi A., Chankhampan C., Manosroi W., Manosroi J.* Toxicity Reduction and MMP-2 Stimulation of Papain and Bromelain Loaded in Elastic Niosomes // *J. Biomed. Nanotechnol.* 2012. V. 8. № 5. P. 720–729. <https://doi.org/10.1166/jbn.2012.1458>
26. *Chen Y.Y., Lu Y.H., Ma C.H. et al.* A novel elastic liposome for skin delivery of papain and its application on hypertrophic scar // *Biomed. & Pharmacother.* 2017. V. 87. P. 82–87. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.12.076>
27. *Wang M., Jia C., Qi W. et al.* Porous-CLEAs of papain: Application to enzymatic hydrolysis of macromolecules // *Biores. Technol.* 2011. V. 102. P. 3541–3545. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.08.120>
28. *Zhou L., Wang C., Jiang Y., Gao J.* Immobilization of papain in biosilica matrix and its catalytic property // *Chin. J. Chem. Engineer.* 2013. V. 21. № 6. P. 670–675. [https://doi.org/10.1016/S1004-9541\(13\)0013](https://doi.org/10.1016/S1004-9541(13)0013)
29. *Sahoo B., Sahu S.K., Bhattacharya D. et al.* A novel approach for efficient immobilization and stabilization of papain on magnetic gold nanocomposites // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2013. V. 101. P. 280–289. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.07.003>
30. *Романовская И.И., Декина С.С., Чаланова Р.И., Сотникова Е.П.* Технология получения и изучение

- острой токсичности глазных лекарственных пленок с папаином и мочевиной // Хим.-фарм. журн. 2012. Т. 46. № 3. С. 37–39. [*Romanovskaya I.I., Dekina S.S., Chalanova R.I., Sotnikova E.P.* Production technology and acute toxicity of ocular medicinal films containing papain and urea // *Pharm. Chem. J.* 2012. V. 46. № 3. P. 180–182. (In Russ.)]  
<https://doi.org/10.1007/s11094-012-0755-7>
31. *Khalil A., Saurabha C.K., Adnan A.S. et al.* A review on chitosan-cellulose blends and nanocellulose reinforced chitosan biocomposites: properties and their applications // *Carbohydr. Polym.* 2016. V. 150. P. 216–226.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.028>
  32. *Logith Kumar R., Keshav Narayan A., Dhivya S. et al.* A review of chitosan and its derivatives in bone tissue engineering // *Carbohydr. Polym.* 2016. V. 15. P. 172–188.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.049>
  33. *Sionkowska A.* Current research on the blends of natural and synthetic polymers as new biomaterials: Review // *Progress in Polymer Sci.* 2011. V. 36. № 9. P. 1254–1276.  
<https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.05.003>
  34. *Ji J., Hao S., Wu D. et al.* Preparation, Characterization and in Vitro Release of Chitosan Nanoparticles Loaded with Gentamicin and Salicylic Acid // *Carbohydr. Polym.* 2011. V. 85. P. 803–808.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.03.051>
  35. *Dincer A., Becerik S., Aydemir T.* Immobilization of tyrosinase on chitosan-clay composite beads // *Int. J. Biol. Macromol.* 2012. V. 50. № 3. P. 815–820.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2011.11.020>
  36. *Zargar V., Asghari M., Dashti M.* A Review on Chitin and Chitosan Polymers: Structure, Chemistry, Solubility, Derivatives, and Applications // *Chem. Bio. Eng.* 2015. V. № 3. P. 204–226.  
<https://doi.org/10.1002/cben.201400025>
  37. *Sionkowska A., Planecka A., Lewandowska K., Michalska M.* The influence of UV-irradiation on thermal and mechanical properties of chitosan and silk fibroin mixtures // *J. Photochem. Photobiol. B: Biology.* 2014. V. 140. P. 301–305.  
<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2014.08.017>
  38. *Chelminiak-Dudkiewicz D., Ziegler-Borowska M., Stolarska M. et al.* The chitosan - Porphyrine hybrid materials and their photochemical properties // *J. Photochem. Photobiol. B: Biology.* 2018. V. 181. P. 1–13.  
<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.02.021>
  39. *Nettles D.L., Elder S.H., Gilbert J.A.* Potential Use of Chitosan as a Cell Scaffold Material for Cartilage Tissue Engineering // *Tissue Eng.* 2002. V. 8. № 6. P. 1009–1016.  
<https://doi.org/10.1089/107632702320934100>
  40. *Struszczyk M.H.* Applications of chitosan // *Polymer.* 2002. V. 47. P. 396–403.
  41. *Marsano E., Bianchi E., Vicini S. et al.* Stimuli responsive gels based on interpenetrating network of chitosan and poly(vinylpyrrolidone) // *Polymer.* 2005. V. 46. № 5. P. 1595–1600.  
<https://doi.org/10.1016/j.polymer.2004.12.017>
  42. *Sionkowska A., Skopinska-Wisniewska J., Planecka A., Kozłowska J.* The influence of UV irradiation on the properties of chitosan films containing keratin // *Polymer Degradation and Stability.* 2010. V. 95. № 12. P. 2486–2491.  
<https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2010.08.002>
  43. *Holyavka M.G., Artyukhov V.G., Sazykina S.M., Nakvasina M.A.* Properties of Trypsin-Based Heterogeneous Biocatalysts Immobilized on Ion-Exchange Fiber Matrices // *Pharm. Chem. J.* 2017. V. 51. № 8. P. 702–706.  
<https://doi.org/10.1007/s11094-017-1678-0>
  44. *Артюхов В.Г., Ковалева Т.А., Наквасина М.А. и др.* Биофизика. М.: Академ. Проект, 2020. 294 с. [*Artyukhov V.G., Kovaleva T.A., Nakvasina M.A. et al.* *Biofizika.* Moskva: Akademicheskij Proekt, 2020. 294 p. (In Russ.)]
  45. *Dose K., Risi S.* The action of U.V. light of various wavelengths on papain // *Photochem. Photobiol.* 1972. V. 15. № 1. P. 43–50.  
<https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1972.tb06221.x>
  46. *Novinec M., Lenard B.* Papain-like peptidases: structure, function, and evolution // *Biomol. Concepts.* 2013. V. 4. № 3. P. 287–308.  
<https://doi.org/10.1515/bmc-2012-0054>
  47. *Vernet T., Tessier D.C., Chatellier J. et al.* Structural and Functional Roles of Asparagine 175 in the Cysteine Protease Papain // *J. Biol. Chem.* 1995. 270. № 28. P. 16645–16652.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.270.28.16645>
  48. *Fernandez-Lucas J., Castaneda D., Hormigo D.* New trends for a classical enzyme: papain, a biotechnological success story in the food industry // *Trends in Food Sci. & Technol.* 2017. V. 68. P. 91–101.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.08.017>
  49. *Baughner J.F., Grossweiner L.I.* Ultraviolet inactivation of papain // *Photochem. Photobiol.* 1975. V. 22. № 5. P. 163–167.  
<https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1975.tb06731.x>
  50. *Sharma M., Sharma V., Panda A.K. et al.* Enteric microsphere formulations of papain for oral delivery // *Pharm. Soc. Jap.* 2011. V. 131. № 5. P. 697–709.  
<https://doi.org/10.1248/YAKUSHI.131.697>
  51. *Sharma M., Sharma V., Panda A.K., Majumdar D.K.* Development of enteric submicron particle formulation of papain for oral delivery // *Int. J. Nanomed.* 2011. V. 6. P. 2097–2111.  
<https://doi.org/10.2147/IJN.S23985>
  52. *Sionkowska A., Kaczmarek B., Gnatowska M., Kowalonek J.* The influence of UV-irradiation on chitosan modified by the tannic acid addition // *J. Photochem. Photobiol. B: Biology.* 2015. V. 148. P. 333–339.  
<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2015.03.028>
  53. *Praxedes A.P.P., Silva A.J.C., Silva R.C. et al.* Effects of UV irradiation on the wettability of chitosan films containing dansyl derivatives // *J. Colloid and Interface Sci.* 2012. V. 376. № 1. P. 255–261.  
<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.02.056>

## Chitosan and Chitosan Succinate as Photoprotectors for Papain Immobilized on Their Matrix

M. G. Holyavka<sup>a,b,#</sup>, S. M. Pankova<sup>a,c</sup>, Yu. M. Vyshkvorkina<sup>d</sup>, A. N. Lukin<sup>a</sup>, M. S. Kondratyev<sup>e</sup>, and V. G. Artyukhov<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Voronezh State University, Voronezh, Russia

<sup>b</sup> Sevastopol State University, Sevastopol, Russia

<sup>c</sup> N.N. Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia

<sup>d</sup> Moscow Institute of Physics and Technology, Moscow, Russia

<sup>e</sup> Institute of Cell Biophysics, Russian Academie of Sciences, Pushchino, Russia

#E-mail: holyavka@rambler.ru

It has been established that UV radiation in doses of 453–6040 J/m<sup>2</sup> has an effect on the decrease in the specific activity of free papain. Adsorption immobilization on a matrix of medium-molecular weight (200 kDa), high-molecular weight (350 kDa), food (<100 kDa) chitosans and chitosan succinate promotes an increase in the stability of papain molecules with respect to UV irradiation in the dose range from 151 to 6040 J/m<sup>2</sup> compared to free enzyme. Modifications in the IR spectra of immobilized papain practically do not affect the bands caused by the protein component of the system: amide I, amide II, amide III, so it can be postulated that the chitosan and chitosan succinate matrix act as a photoprotector for immobilized papain. The results obtained can be useful for pharmacology and medicine in the development of drugs that promote accelerated healing of the skin, as well as in the selection of conditions for UV sterilization of drugs containing papain.

**Keywords:** UV-irradiation, adsorption immobilization, gel incorporation, papain, chitosan, chitosan succinate

УДК 539.163:582.29:621.039

## НАКОПЛЕНИЕ $^{137}\text{Cs}$ ЛИШАЙНИКАМИ РОДА *Cladonia* В ЗОНЕ ВЛИЯНИЯ КОЛЬСКОЙ АТОМНОЙ ЭЛЕКТРОСТАНЦИИ

© 2022 г. М. Б. Попова<sup>1,\*</sup>, Д. Н. Липатов<sup>2</sup>, Д. В. Манахов<sup>2</sup>, А. Н. Кизеев<sup>3</sup>, С. Ф. Ушамова<sup>4</sup><sup>1</sup> Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского РАН, Москва, Россия<sup>2</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия<sup>3</sup> Северо-Западный научный центр гигиены и общественного здоровья Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Санкт-Петербург, Россия<sup>4</sup> Лапландский государственный природный биосферный заповедник, Мончегорск, Россия

\*E-mail: marbpop@gmail.com

Поступила в редакцию 28.12.2021 г.

После доработки 05.06.2022 г.

Принята к публикации 29.06.2022 г.

Изучены накопление  $^{137}\text{Cs}$  и его стратификация в талломах лишайников рода *Cladonia*, произрастающих в районе расположения Кольской атомной электростанции. Для этого отобраны образцы ягеля на 12 пробных площадках в санитарно-защитной зоне станции, зоне наблюдения и на фоновой территории. Удельные активности  $^{137}\text{Cs}$  в пробах определяли с помощью сцинтилляционного гамма-спектрометра. Средневзвешенные удельные активности  $^{137}\text{Cs}$  в лишайниках рода *Cladonia* составили 22.3–104.8 Бк/кг, при этом большая часть радиоцезия была сосредоточена в верхних частях талломов. Статистическая обработка данных с применением одновыборочного *t*-критерия, коэффициента Спирмена и кластерного анализа указала на доминирующую роль глобальных выпадений в поступлении  $^{137}\text{Cs}$  в лишайники, при этом возможное влияние Кольской атомной электростанции на этот процесс ограничивается санитарно-защитной зоной.

**Ключевые слова:** лишайники рода *Cladonia*, подцеции,  $^{137}\text{Cs}$ ,  $^{40}\text{K}$ , Кольская атомная электростанция, корреляционный анализ

**DOI:** 10.31857/S0869803122050125

Лесные биогеоценозы Крайнего Севера подвержены сильному антропогенному воздействию. Арктическая зона Российской Федерации (АЗРФ), составляющая значительную часть Северного полушария Земли, длительное время подвергалась загрязнению техногенными радионуклидами в результате трансграничного переноса этих веществ и глобальных аэральных выпадений. В АЗРФ также существуют местные промышленные источники локального поступления радионуклидов в окружающую среду [1, 2].

В Мурманской области сконцентрирован ряд объектов, представляющих потенциальную радиационную опасность. К ним относятся Кольская атомная электростанция (КоАЭС), ледоколы и субмарины с ядерными энергетическими установками (ЯЭУ); предприятия, осуществляющие ремонт, модернизацию, переоборудование и утилизацию кораблей, судов и иной морской техники с ЯЭУ; хранилища радиоактивных отходов, объекты проведения подземных ядерных взрывов малой мощности и другие источники ионизирующих излучений [3, 4].

В некоторых живых организмах радионуклиды могут накапливаться в концентрациях, превышающих их содержание в окружающей среде. В радиоэкологическом аспекте особое внимание заслуживают лишайники – компоненты растительного покрова с высокой концентрирующей способностью [5–8]. Они являются общепризнанными биоиндикаторами радиоактивного загрязнения окружающей среды в силу своих эколого-морфологических особенностей, таких как преимущественно атмосферный тип питания, широкий ареал распространения, медленное нарастание биомассы, большая сорбционная емкость и прочность фиксации высокодисперсных радиоактивных частиц [9–12]. Лишайники играют существенную роль в процессах первичного перехватывания и аккумуляции радионуклидов, поступающих на земную поверхность. Мохово-лишайниковый покров способен фиксировать до 80% радиоактивных веществ, поступающих с аэральными выпадениями и на неопределенно продолжительное время задерживать последующие процессы миграции и перераспределения ра-

дионуклидов в почвенно-растительном покрове [5], а концентрация излучателей в лишайниках, как правило, способна превышать таковую в наземных высших растениях [13]. Считается, что лишайники способны поглощать некоторое количество элементов питания из почвы, но точный вклад почвы в их питание не известен, по отдельным литературным данным, он не превышает 10% [14].

Исследованиям процессов миграции и аккумуляции радионуклидов лишайниками уделяется повышенное внимание как в АЗРФ, так и на территории других стран Северного полушария Земли. Наиболее активно лишайники аккумулируют  $^{137}\text{Cs}$ , а основой его накопления служат физиолого-биохимические процессы, связанные с метаболической активностью талломов [15]. В фоновых арктических условиях удельные активности лишайников находятся в диапазоне от 5 до 90 Бк/кг, тогда как на загрязненных территориях за Полярным кругом в середине 1960-х удельные активности достигали значений 94400 Бк/кг [16–18, 14, 19–22]. Сведения о распределении долгоживущих радионуклидов техногенного происхождения в лишайниковом покрове в районах Мурманской области, непосредственно прилегающих к КоАЭС, немногочисленны несмотря на то, что лишайники доминируют в нижних ярусах лесных экосистем. Описанный на текущий момент диапазон удельных активностей лишайников рода *Cladonia* в юго-западной части Кольского полуострова составляет от 16 до 90 Бк/кг [23, 24, 4, 25].

Исходя из вышесказанного, целью настоящей работы стало изучение аккумуляции и пространственного перераспределения  $^{137}\text{Cs}$  в лишайниках, как наиболее надежных индикаторах радиоактивного загрязнения, в пределах 30-километровой зоны КоАЭС.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Объектами исследований послужили лишайники, произрастающие в радиусе до 30 км от КоАЭС. Изучение лишайников проводили на стационарной сети мониторинговых площадок, которая располагалась в виде радиально-концентрической системы от АЭС [26].

– одна площадка находилась в пределах санитарно-защитной зоны (СЗЗ) атомной станции – С-1;

– шесть пробных площадок – в зоне наблюдения (ЗН), на расстоянии до 10 км от атомной станции – С-2, П-1, П-2, П-3, П-4 и П-5;

– четыре контрольные площадки – на границе ЗН, на расстоянии 15 км – К-I, К-II, К-III и К-IV;

– одна фоновая площадка – на расстоянии 30 км от станции – Ф.

Характеристика используемых в работе площадок представлена в табл. 1.

Система мониторинговых площадок располагалась в районе озер Имандра и Верхняя Пиренга. В древостое на площадках преобладает сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.) V и Va класса бонитета. Также присутствуют береза повислая (*Betula pendula* Roth. X), береза пушистая (*Betula pubescens* Ehrh.) и ель сибирская (*Picea obovata* Ledeb.). В травяно-кустарничковом ярусе доминируют представители рода *Vaccinium* – черника миртолистная (*Vaccinium myrtillus* L.), а также брусника (*Vaccinium vitis-idaea* L.). Встречаются багульник (*Ledum palustre* L.), вороника (*Empetrum hermaphroditum* Lange ex Hagerup) и голубика (*Vaccinium uliginosum* L.). Нижний ярус образован лишайниковым покровом, в котором доминируют лишайники рода *Cladonia* – кладония звездчатая (*Cladonia stellaris* (Opiz) Pouzar et Vězda), кладония оленья (*Cladonia rangiferina* L.) и кладония приальпийская (*Cladonia alpestris* (L.) Rabenh). Это кустистые, сильно разветвленные напочвенные (эпигейные) лишайники, типичные для северотаежных лесов. В ряде случаев на площадках нижний ярус представляет собой мохово-лишайниковый покров, образованный лишайниками и зелеными мхами, среди которых доминирующее положение занимают плеурозиум Шребера (*Pleurozium schereberi* (Brid) Mitt.) и гилокомиум блестящий (*Hylocomnium splendens* Hedw.).

Для площадок выбирались места с автоморфными условиями и однородным растительным покровом. На каждой площадке отбирались лишайники рода *Cladonia* – показательные биоиндикаторы, в полной мере отражающие состояние окружающей среды.

С каждой площадки было взято по одному образцу лишайников, всего 12 образцов. В лаборатории из этих образцов удалялись инородные составляющие – кора, хвоя, шишки, корни, листья и др. В дальнейшем подстилки лишайников разделялись на верхнюю, среднюю и нижние части для изучения фракционирования  $^{137}\text{Cs}$  в лишайниковом покрове. Верхняя и средняя части соответствовали живым подстилкам лишайников разного возраста, а нижняя часть – мертвой толще лишайника [27, 28]. Каждый образец был высушен, измельчен и озолён в муфельной печи при температуре не более 400°C для исключения потери  $^{137}\text{Cs}$ . Поскольку на поглощение лишайниками  $^{137}\text{Cs}$  и на его распределение в подстилках может оказывать влияние калий как питательный элемент и химический аналог радиоцезия, в пробах были также измерены удельные активности  $^{40}\text{K}$ . Удельная активность  $^{137}\text{Cs}$  и  $^{40}\text{K}$  была измерена в образцах золы на спектрометрическом комплексе “Мультирад” с гамма-детектором NaI(Tl) 63 × 63 с программным обеспечением “Прогресс”

**Таблица 1.** Характеристика стационарных мониторинговых площадок  
**Table 1.** Characteristics of stationary monitoring sites

№ п/п	Площадка	Координаты, с.ш., в.д.	Высота над уровнем моря, м	Расстояние от КоАЭС, км	Тип леса (русское название), согласно: (Л.Б. Заугольнова, В.Б. Мартыненко Определитель типов леса Европейской России)	Тип леса (латинское название, по доминантам), согласно: (Л.Б. Заугольнова, В.Б. Мартыненко Определитель типов леса Европейской России)
1	С-1	67°27'59.821" 32°26'42.299"	170	1.8	Сосняк чернично-лишайниковый	<i>Pinus sylvestris</i> – <i>Vaccinium myrtillus</i> – <i>Cladonia</i> spp.
2	С-2	67°28'56.701" 32°24'50.400"	175	3.7	Сосняк чернично-багульниково-зеленомошный	<i>Pinus sylvestris</i> – <i>Vaccinium</i> spp. + <i>Ledum palustre</i> – <i>Pleurozium</i> + <i>Hylocomnium</i>
3	П-1	67°32'27.780" 32°19'13.260"	133	11.1	Сосняк чернично-лишайниковый	<i>Pinus sylvestris</i> – <i>Vaccinium myrtillus</i> – <i>Cladonia</i> spp.
4	П-2	67°33'32.461" 32°29'16.321"	199	10.5	Сосняк зеленомошно-лишайниковый черничный	<i>Pinus sylvestris</i> – <i>Vaccinium myrtillus</i> . – <i>Cladonia</i> spp. + <i>Pleurozium</i>
5	П-3	67°27'7.081" 32°40'24.539"	153	8.1	Сосняк зеленомошно-лишайниковый черничный	<i>Pinus sylvestris</i> – <i>Vaccinium myrtillus</i> . – <i>Cladonia</i> spp. + <i>Pleurozium</i>
6	П-4	67°22'50.941" 32°26'0.060"	162	9.6	Ельник воронично-чернично-зеленомошный (с примесью сосны)	<i>Picea obovata</i> – <i>Vaccinium</i> spp. – <i>Hylocomnium</i> + <i>Pleurozium</i>
7	П-5	67°24'13.561" 32°20'15.900"	171	9.3	Сосняк зеленомошно-лишайниковый черничный	<i>Pinus sylvestris</i> – <i>Vaccinium myrtillus</i> . – <i>Cladonia</i> spp. + <i>Pleurozium</i>
8	К-I	67°34'6.060" 32°14'18.780"	192	15.7	Сосняк чернично-лишайниковый	<i>Pinus sylvestris</i> – <i>Vaccinium myrtillus</i> – <i>Cladonia</i> spp.
9	К-II	67°35'25.200" 32°35'48.120"	160	14.8	Сосняк чернично-лишайниковый	<i>Pinus sylvestris</i> – <i>Vaccinium myrtillus</i> – <i>Cladonia</i> spp.
10	К-III	67°26'2.940" 32°53'30.840"	205	17.6	Сосняк зеленомошно-лишайниковый черничный	<i>Pinus sylvestris</i> – <i>Vaccinium myrtillus</i> . – <i>Cladonia</i> spp. + <i>Pleurozium</i>
11	К-IV	67°20'8.700" 32°23'0.600"	166	15.1	Сосняк зеленомошно-лишайниковый черничный	<i>Pinus sylvestris</i> – <i>Vaccinium myrtillus</i> . – <i>Cladonia</i> spp. + <i>Pleurozium</i>
12	Ф	67°34'38.820" 31°49'47.219"	180	30.7	Сосняк чернично-лишайниковый	<i>Pinus sylvestris</i> – <i>Vaccinium myrtillus</i> – <i>Cladonia</i> spp.

(ООО “НТЦ Амплитуда”, Россия) в пятикратной повторности с экспозицией 10800 с. Энергетическое разрешение по линии 662 кэВ составляет 9%. Минимальная детектируемая активность при экспозиции 3600 с составляет 3 Бк. Неопределенность измерения рассчитывалась как среднеквадратическое отклонение скорости счета; неопределенность косвенных измерений – как комбинированная стандартная неопределенность от всей индивидуальной неопределенности составных частей (JCGM 100:2008). Удельные активно-

сти <sup>90</sup>Sr были измерены в образцах золы на спектрометрическом комплексе “Мультирад” с пластиковым бета-детектором диаметром 70 мм с программным обеспечением “Прогресс” (ООО “НТЦ Амплитуда”, Россия). Минимальная детектируемая активность при экспозиции 3600 с составляет 1 Бк.

Также в работе использовались многолетние данные о скорости и повторяемости ветров в районе расположения атомной станции (за период

**Таблица 2.** Статистические характеристики варьирования удельной активности  $^{137}\text{Cs}$  и  $^{40}\text{K}$  (Бк/кг) в подстилке лишайников и почвенных горизонтах на исследованной территории ( $n = 12$ )  
**Table 2.** Statistical characteristics of variation in the specific activities of  $^{137}\text{Cs}$  and  $^{40}\text{K}$  (Bq/kg) in lichen podetium and soil horizons in the study area ( $n = 12$ )

Радионуклид	Компонент	Среднее, Бк/кг	Медиана, Бк/кг	Нижний квартиль, Бк/кг	Верхний квартиль, Бк/кг	Стандартное отклонение, Бк/кг	Коэффициент вариации, %
$^{137}\text{Cs}$	Верхняя часть подстилки лишайников	86.5	90.9	43.4	123.8	40.0	46.2
	Средняя часть подстилки лишайников	41.3	39.9	25.1	47.4	20.7	50.1
	Нижняя часть подстилки лишайников	36.0	27.7	22.9	42.2	22.0	61.1
	Горизонт О почвы	65.2	65.9	45.6	83.5	22.6	34.7
	Горизонт АО почвы	38.0	39.4	25.4	50.3	17.3	45.7
	Горизонт Е почвы	5.1	4.1	2.8	7.2	3.2	62.5
	Горизонт В1f почвы	2.9	2.4	1.2	3.7	2.0	67.5
$^{40}\text{K}$	Верхняя часть подстилки лишайников	90.5	91.1	80.5	97.6	12.5	13.8
	Средняя часть подстилки лишайников	61.1	62.4	52.8	70.6	10.7	17.5
	Нижняя часть подстилки лишайников	54.9	57.0	44.2	64.7	12.2	22.2
Зольность, %	Верхняя часть подстилки лишайников	0.93	0.8	0.7	1.0	0.4	42,3
	Средняя часть подстилки лишайников	1.11	0.8	0.7	1.1	0.9	84,6
	Нижняя часть подстилки лишайников	1.73	1.4	0.9	1.6	1.7	97.5

2012–2016 гг.), которые были получены с метеостанций АМС-1 автоматизированной системы контроля радиационной обстановки (АСКРО) КоАЭС [26].

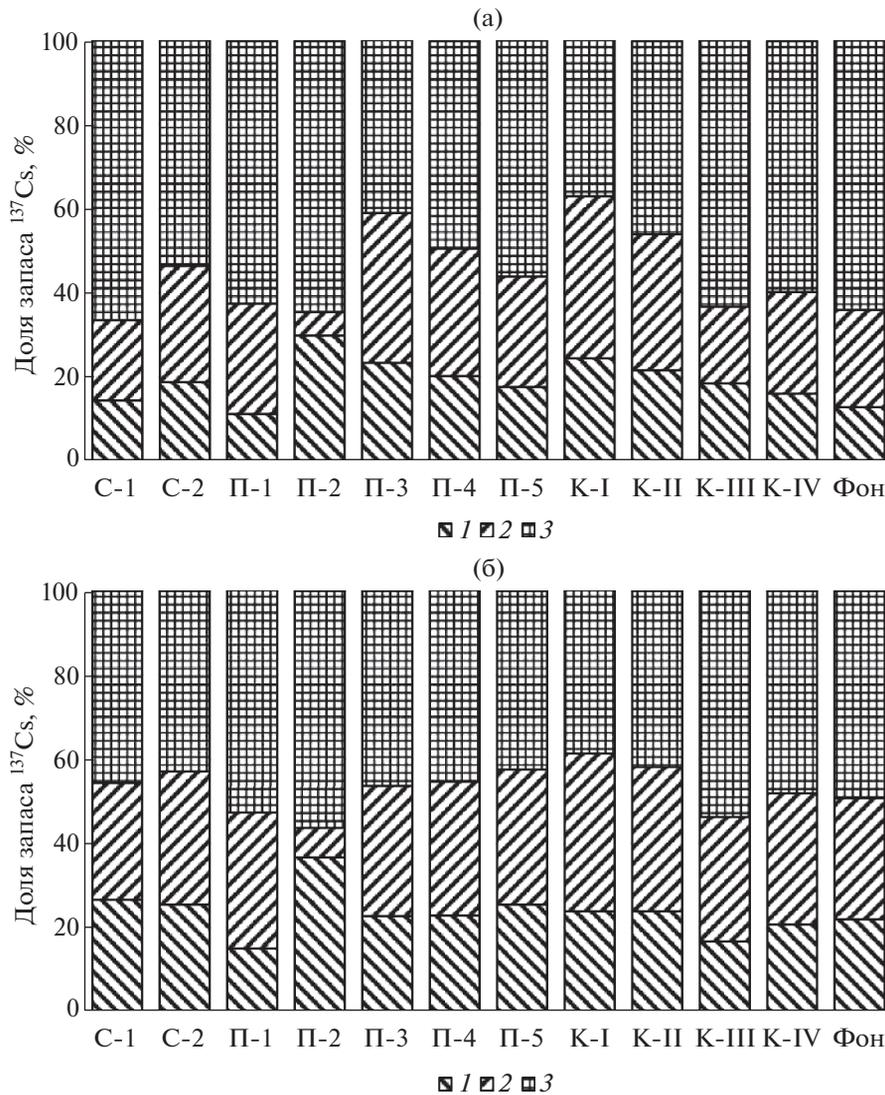
Проводилась статистическая обработка данных. Для проверки нормального закона распределения использованы критерии Уилка–Шapiro и Колмогорова–Смирнова. Сравнение средних проводили с помощью  $t$ -критерия Стьюдента, корреляционный анализ – с помощью коэффициента корреляции Спирмена. Кластерный анализ данных выполняли методом  $k$ -средних, оценку качества классификации проводили с помощью дисперсионного анализа.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Значения удельных активностей  $^{137}\text{Cs}$  в различных частях подстилки лишайников варьировали на исследованных площадках от 14.8 до 139.4 Бк/кг (табл. 2). Средние значения удельной

активности  $^{137}\text{Cs}$  уменьшаются от верхней к нижней части подстилки лишайников, при этом в почвенной подстилке (горизонт О) снова увеличиваются (табл. 2). Сходное снижение в различных частях подстилки лишайников отмечается для удельной активности  $^{40}\text{K}$ . Зольность увеличивается в нижней части подстилки лишайников. Коэффициенты вариации удельной активности  $^{137}\text{Cs}$  в исследованных природных компонентах изменяются от 34.7 до 67.5%. В подстилке лишайников коэффициенты вариации удельной активности  $\text{K-40}$  значительно ниже, чем техногенного радионуклида  $^{137}\text{Cs}$ . Распределение удельных активностей  $^{137}\text{Cs}$  и  $^{40}\text{K}$  в исследованных компонентах лишайников и почвы удовлетворяло нормальному закону (при уровне значимости  $p = 0.05$ ). Распределение зольности статистически значимо отличается от нормального закона.

Для оценки накопления  $^{137}\text{Cs}$  лишайниками также были рассчитаны его средневзвешенные



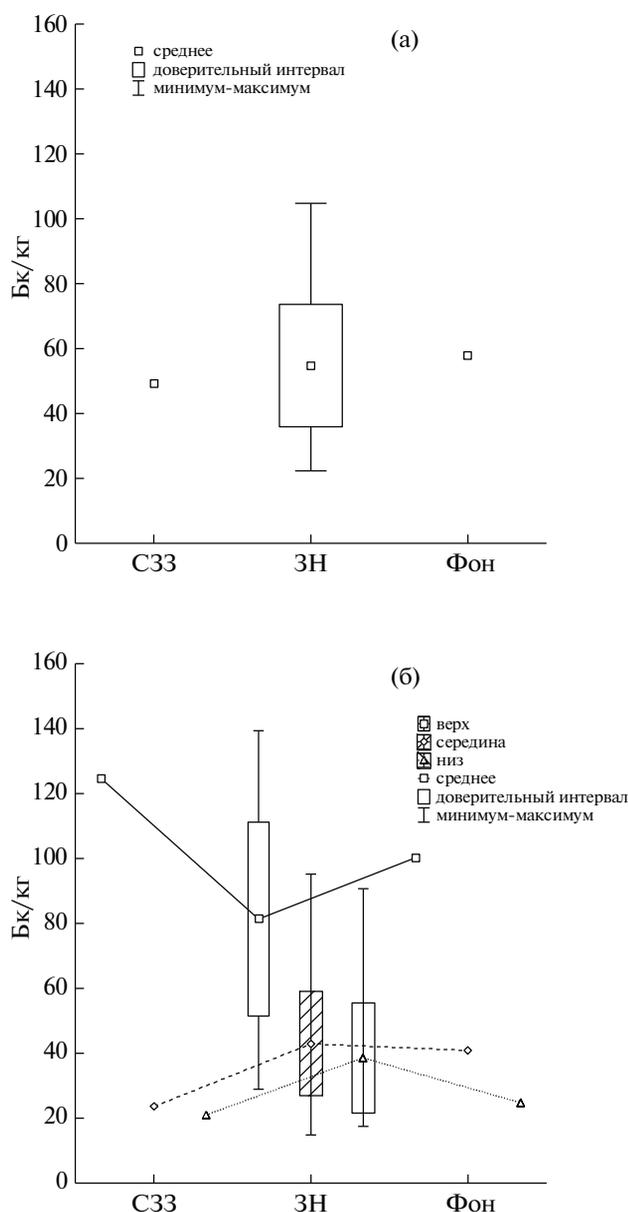
**Рис. 1.** Доли запаса  $^{137}\text{Cs}$  (а) и  $^{40}\text{K}$  (б) в нижней (1), средней (2) и верхней (3) частях подетиев лишайников рода *Cladonia*.  
**Fig. 1.** Shares of  $^{137}\text{Cs}$  (а) and  $^{40}\text{K}$  (б) reserves in the lower (1), middle (2), and upper (3) parts of podetium of lichens of the genus *Cladonia*.

удельные активности ( $A_{\text{уд}}^{137}\text{Cs}$ ) с учетом массы всех частей подетия. На исследуемых площадках они составляли от 22.3 до 104.8 Бк/кг (рис. 1, а), при этом наибольший вклад в удельную активность вносили верхние части подетиев (рис. 1, б). При измерении удельных активностей  $^{90}\text{Sr}$  в счетных образцах было обнаружено, что они ниже минимальной детектируемой активности, поэтому в данном исследовании не рассматривались. Средневзвешенные удельные активности  $^{40}\text{K}$  в подетиях находились в пределах 56.8–85.0 Бк/кг, что соответствует массовому содержанию стабильного калия-39 от 1855 до 2769 мг/кг, согласно соотношению изотопов природного калия (табл. SM2). Эти значения попадают в диапазон

481–7900 мг/кг, описанный в отечественной научной литературе для лишайников рода *Cladonia* в АЗРФ [7, 29].

Для описания фракционирования радионуклидов в подетиях были рассчитаны доли их запаса в нижней, средней и верхней частях. Во всех образцах эти запасы снижались вниз по подетию, в их верхних частях было сосредоточено наибольшее количество  $^{137}\text{Cs}$  – 37.1–66.4% и  $^{40}\text{K}$  – 38.7–56.3% от их общих запасов, причем во всех пробах, кроме П-2, запасы снижались строго в ряду: верх>середина>низ (рис. 1).

Сравнение уровней удельной активности  $^{137}\text{Cs}$  в верхней, средней и нижней частях подетиев лишайников проводили с помощью *t*-критерия



**Рис. 2.** Удельные активности  $^{137}\text{Cs}$  в лишайниках санитарно-защитной зоны, зоны наблюдения и на фоновой площадке: а) средневзвешенные; б) в верхних, средних и нижних частях подециев.

**Fig. 2.** Specific activities of  $^{137}\text{Cs}$  in lichens of the sanitary protection zone, observation zone and on the background site: а) weighted average; б) in the upper, middle, and lower parts of the podetium.

Стьюдента. Средняя удельная активность  $^{137}\text{Cs}$  в верхней части подециев статистически значимо больше, чем в средней ( $t = 3.48, p < 0.05$ ) и нижней ( $t = 3.84, p < 0.05$ ) частях. Уровни  $^{137}\text{Cs}$ , зафиксированные в средней и нижней частях, между собой значимо не различаются. Аналогичные результаты отмечены для удельной активности  $^{40}\text{K}$  в этих частях подециев лишайников.

Сравнение средней удельной активности  $^{137}\text{Cs}$  в подециях лишайников в зоне наблюдения КоАЭС с уровнями в санитарно-защитной зоне и на фоновой территории проводилось с помощью одновыборочного  $t$ -критерия Стьюдента (табл. SM3). При этом удельные активности в ЗН КоАЭС рассматривались как единая выборка, а в СЗЗ КоАЭС и на фоновой территории – как константы (рис. 2, б). Средняя удельная активность  $^{137}\text{Cs}$  в верхней части подециев в зоне наблюдения, составившая  $81.3 \pm 41.7$  Бк/кг, статистически значимо ниже ( $t = -3.28, p < 0.05$ ), чем в санитарно-защитной зоне (124.6 Бк/кг), но не отличается от фонового уровня (100.3 Бк/кг). При этом уровень удельной активности  $^{137}\text{Cs}$ , зафиксированный в верхней части лишайников в СЗЗ, превышает на 14 Бк/кг верхнюю границу 95%-ного доверительного интервала этого показателя в ЗН, но не выходит за пределы размаха варьирования.

Средняя удельная активность  $^{137}\text{Cs}$  в средней и нижней частях подециев лишайников в зоне наблюдения статистически значимо больше ( $t = 2.78, t = 2.29, p < 0.05$ ), чем в санитарно-защитной зоне, и не отличается от фонового уровня. При этом уровни удельной активности  $^{137}\text{Cs}$ , зафиксированные в средней и нижней частях лишайников в СЗЗ, выходят за нижнюю границу 95%-ного доверительного интервала этого показателя в ЗН, но не выходят за пределы размаха варьирования. Следует отметить, что усредненные по всей толще подециев значения удельной активности  $^{137}\text{Cs}$  в зоне наблюдения не имели значимых различий с уровнями, зафиксированными в СЗЗ и на фоновой территории (рис. 2, а).

Для изучения возможных взаимосвязей между удельными активностями  $^{137}\text{Cs}$ ,  $^{40}\text{K}$  и зольностью подециев лишайников проводили корреляционный анализ с использованием коэффициента Спирмена (табл. 3).

Статистически значимая положительная корреляция отмечена между удельными активностями  $^{137}\text{Cs}$  в верхней, средней и нижней частях подециев. При этом таких взаимосвязей не выявлено между удельными активностями этого техногенного радионуклида в подециях лишайников и нижележащих горизонтах почвы.

В верхней и нижней частях подециев лишайников зафиксированы статистически значимые ( $p < 0.10$ ) положительные коэффициенты корреляции между удельными активностями  $^{137}\text{Cs}$  и  $^{40}\text{K}$ . При этом прямая взаимосвязь с зольностью отмечена только для удельной активности  $^{40}\text{K}$  в средней и нижней частях подециев лишайников, тогда как для  $^{137}\text{Cs}$  такая положительная корреляция не выявлена.

Корреляционный анализ был дополнен поиском взаимосвязей между удельными активностями

**Таблица 3.** Коэффициенты корреляции Спирмена между удельной активностью <sup>137</sup>Cs, <sup>40</sup>K, зольностью в различных подстилах лишайников и горизонтах почвы (*n* = 12)  
**Table 3.** Spearman correlation coefficients between the specific activities of <sup>137</sup>Cs, <sup>40</sup>K and ash content in various lichen podetium and soil horizons (*n* = 12)

Показатели		Удельная активность радионуклидов в подстилах лишайников					
		<sup>137</sup> Cs			<sup>40</sup> K		
		верхняя часть	средняя часть	нижняя часть	верхняя часть	средняя часть	нижняя часть
<sup>137</sup> Cs	Верхняя часть подстилов лишайников	1.00					
	Средняя часть подстилов лишайников	+0.64**	1.00				
	Нижняя часть подстилов лишайников	+0.52*	+0.92***	1.00			
	Горизонт О почвы	-0.41	+0.06	+0.18			
	Горизонт АО почвы	+0.02	-0.26	-0.20			
	Горизонт Е почвы	-0.36	-0.16	-0.29			
	Горизонт В1f почвы	+0.10	+0.52*	+0.53*			
<sup>40</sup> K	Верхняя часть подстилов лишайников	+0.54*	+0.18	+0.27	1.00		
	Средняя часть подстилов лишайников	-0.52*	+0.08	+0.19	-0.14	1.00	
	Нижняя часть подстилов лишайников	-0.22	+0.32	+0.56*	-0.12	+0.61**	1.00
Зольность	Верхняя часть подстилов лишайников	-0.34	+0.21	+0.36	-0.10	+0.49	+0.70**
	Средняя часть подстилов лишайников	-0.56*	+0.01	+0.08	-0.26	+0.53*	+0.50*
	Нижняя часть подстилов лишайников	-0.57*	-0.25	-0.04	-0.37	+0.46	+0.52*
Расстояние от АЭС		-0.06	+0.20	+0.01	-0.71**	-0.01	-0.08
Повторяемость ветра		-0.34	-0.30	-0.40	-0.34	+0.16	-0.33
Скорость ветра		+0.66**	+0.31	+0.36	+0.46	-0.65**	-0.06
Высота над уровнем моря		+0.05	+0.15	+0.06	-0.30	+0.16	+0.18

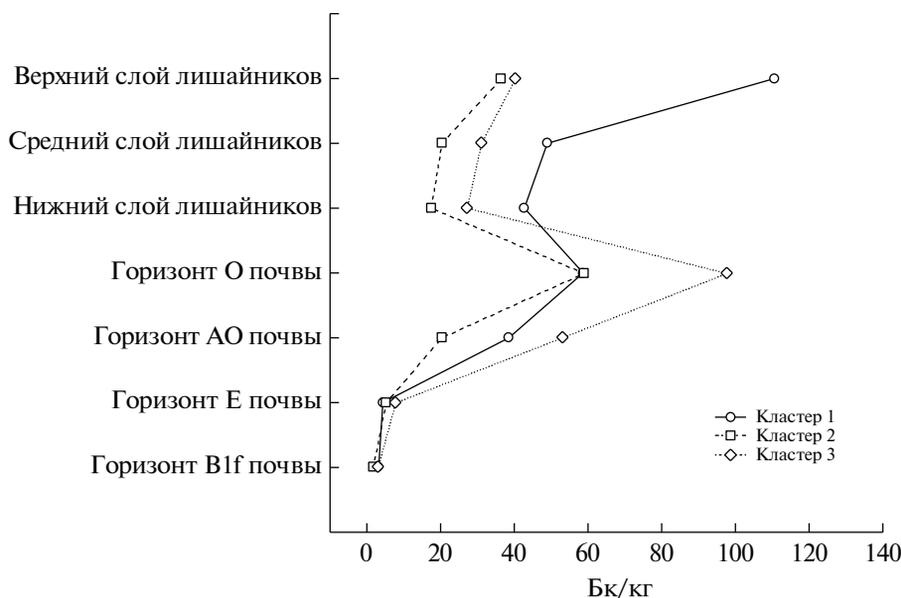
Примечание. Статистически значимая корреляция: \* *p* < 0.10, \*\* *p* < 0.05, \*\*\* *p* < 0.01.

ми радионуклидов и показателями, которые могут свидетельствовать о влиянии КоАЭС на их пространственное распределение: расстоянием до атомной станции, повторяемостью и скоростью преобладающих со стороны атомной станции ветров, а также высотой над уровнем моря (табл. 3). Выявлена статистически значимая взаимосвязь (*r* = +0.66; *p* < 0.05) между скоростью ветра и удельной активностью <sup>137</sup>Cs в верхней части подстилов. На основе результатов корреляционного анализа не обнаружено влияние расстояния от АЭС и абсолютной высоты рельефа исследованных площадок на уровни удельной активности <sup>137</sup>Cs в подстилах лишайников.

С целью изучения закономерностей вертикального распределения удельных активностей <sup>137</sup>Cs в подстилах лишайников и в сопряженных с ними почвенных профилях проводился кластерный анализ данных с итеративной процедурой

разбиения на три кластера. Статистически значимые (*p* < 0.05) различия средних значений удельной активности <sup>137</sup>Cs, превышающие внутрикластерное варьирование, выявлены в верхней части подстилов лишайников и горизонте подстилки О (рис. 3).

В результате проведенного кластерного анализа выделенный кластер 1 объединяет площадки, для которых характерна высокая удельная активность <sup>137</sup>Cs в подстилах лишайников, но низкое значение этого показателя в горизонте подстилки О. В этот кластер 1 отнесены восемь исследованных площадок, преимущественно относящихся к экотопам сосняков чернично-лишайниковых и зеленомошно-лишайниково-черничных, которые располагались как в санитарно-защитной зоне, так и в зоне наблюдения и на фоновой территории.



**Рис. 3.** Вертикальное распределение средних значений удельной активности  $^{137}\text{Cs}$  в слоях подстилки лишайников и горизонтах почвы для выделенных кластеров 1, 2, 3.

**Fig. 3.** Vertical distribution of average values of  $^{137}\text{Cs}$  specific activity in lichen podetium layers and soil horizons for selected clusters 1, 2, and 3.

В кластер 2 включены площадки П-4 и К-III с низкими удельными активностями  $^{137}\text{Cs}$  по всему вертикальному профилю: в подстилке лишайников и горизонтах подстилки О и ОА почвы. Следует отметить, что площадка П-4 расположена в экотопе ельника воронично-чернично-зеленомошного. В кластер 3 объединены площадки П-3 и К-II, характеризующиеся низкими и средними уровнями удельной активности  $^{137}\text{Cs}$  в подстилке лишайников, но самыми высокими уровнями этого показателя в горизонтах подстилки О и ОА (рис. 3).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Выявленные на исследованной территории вокруг КоАЭС средние уровни удельной активности  $^{137}\text{Cs}$  в подстилке лишайников рода *Cladonia* сопоставимы с диапазоном 5–90 Бк/кг, который зафиксирован на фоновых территориях Скандинавии и Кольского полуострова в ряде лихенологических исследований [23, 24, 4, 25, 20]. Более высокие коэффициенты вариации (табл. 2), отмеченные для удельных активностей  $^{137}\text{Cs}$  по сравнению с  $^{40}\text{K}$ , могут указывать на процессы локального перераспределения техногенного радионуклида в подстилке лишайников, не связанные с их калийным питанием. Увеличение удельных активностей в верхней части подстилки лишайников и в верхнем подстилочном горизонте почвы свидетельствует о накоплении этого радионуклида именно в этих природных компонентах.

Выявленное статистически значимое увеличение удельной активности  $^{137}\text{Cs}$  и  $^{40}\text{K}$  в верхней части подстилки лишайников (рис. 1) может быть обусловлено аэральным путем поступления на поверхность растительного покрова в составе глобальных радиоактивных выпадений. Радиоцезий поглощается лишайниками рода *Cladonia* преимущественно из слабоминерализованных атмосферных осадков и способен накапливаться в мембранах и клеточных стенках лишайников [30]. Верхняя часть подстилки исследуемых лишайников достаточно плотная и может выступать механическим и геохимическим барьером на пути вертикальной миграции  $^{137}\text{Cs}$  в нижележащие слои [28]. Кроме того, верхняя часть подстилки является наиболее молодой и активно растущей, что способствует более интенсивному поглощению биофильного элемента калия и одновременно  $^{137}\text{Cs}$ , схожего с ним по химическим свойствам.

При анализе удельной активности  $^{137}\text{Cs}$  на разных расстояниях от КоАЭС следует отметить особое индикаторное значение верхнего слоя подстилки лишайников. Статистически значимое уменьшение удельной активности  $^{137}\text{Cs}$  в верхней части подстилки для зоны наблюдения по сравнению с санитарно-защитной зоной (рис. 2) может отражать различный уровень глобальных выпадений на разных участках района расположения КоАЭС. Сравнение с фоновой территорией показывает, что в зоне наблюдения не отмечено накопление  $^{137}\text{Cs}$  в лишайниках, из чего можно сделать вывод, что возможное влияние АЭС на уровни

ни удельной активности этого техногенного радионуклида ограничивается санитарно-защитной зоной. Зафиксированная удельная активность  $^{137}\text{Cs}$  в верхнем слое лишайников в санитарно-защитной зоне АЭС в 1.1 раза больше, чем верхняя граница доверительного интервала средней величины этого показателя в зоне наблюдения, и в 1.3 раза больше, чем уровень на фоновой площадке.

Выявленная статистически значимая положительная корреляция между удельной активностью  $^{137}\text{Cs}$  в верхней, средней и нижней частях подстилки лишайников (табл. 3) указывает на сопряженный процесс вертикального распределения этого радионуклида в них. Отсутствие взаимосвязи между удельной активностью  $^{137}\text{Cs}$  в подстилке лишайников и почвах под ними может свидетельствовать о том, что этот радионуклид поступает из атмосферных выпадений. При этом лишайниковый покров выступает в качестве биогеохимического барьера на пути нисходящей миграции  $^{137}\text{Cs}$  из аэрозолей в почву.

Зафиксированная положительная корреляция между удельными активностями  $^{137}\text{Cs}$  и  $^{40}\text{K}$  в верхней и нижней частях подстилки свидетельствует о совместном поглощении этих радионуклидов в процессах калийного питания лишайников. При этом с зольностью коррелирует только  $^{40}\text{K}$ , являющийся изотопом стабильного  $^{39}\text{K}$  — биогенного элемента.

Увеличение удельной активности  $^{137}\text{Cs}$  в подстилке лишайников на площадках с повышенными скоростями ветров можно связать с большей интенсивностью атмосферных выпадений в таких локальных метеорологических условиях. Усиление ветра приводит к увеличению количества радионуклидов, которое лишайники отфильтровывают из воздуха. В рамках данного исследования такое влияние, вероятно, сглаживается условием отбора проб внутри лесных массивов, которые дробят и ослабляют воздушные потоки. Отсутствие корреляционной зависимости между расстоянием от КоАЭС и удельной активностью  $^{137}\text{Cs}$  (табл. 3) в подстилке лишайников указывает на преимущественную роль глобальных выпадений этого радионуклида, формирующих его пространственное распределение.

Результаты кластерного анализа показывают, что для исследованной территории вокруг КоАЭС характерны три типа вертикального распределения  $^{137}\text{Cs}$  в подстилке лишайников и верхних почвенных горизонтах. Для большинства экотопов сосняков: восемь площадок, объединенных в кластер 1, характерно накопление  $^{137}\text{Cs}$  в верхней части подстилки лишайников, выступающих главным биогеохимическим барьером. Вместе с тем в отдельных экотопах сосняков на площадках П-3

и К-II, включенных в кластер 3, наибольшие уровни удельной активности  $^{137}\text{Cs}$  приурочены к подстилочным горизонтам почвы, тогда как в подстилке лишайников накопление радионуклида не выражено (рис. 2). В ельнике на площадке П-4 и в одном из сосняков на площадке К-III, включенных в кластер 2, значения удельных активностей  $^{137}\text{Cs}$  в подстилке лишайников и подстилке снижены, указывая на их слабую аккумулялирующую способность по сравнению с остальными исследованными экотопами.

## ВЫВОДЫ

1. В 30-километровой зоне Кольской атомной электростанции средневзвешенные удельные активности  $^{137}\text{Cs}$  в лишайниках рода *Cladonia* находятся в диапазоне от 22.3 до 104.8 Бк/кг. Увеличение удельной активности в верхних частях подстилки связано с их морфофизиологическими особенностями: большей плотностью и активным ростом, а также с аэральным путем поступления  $^{137}\text{Cs}$  в растительный покров.

2. Возможное влияние КоАЭС на уровни удельной активности  $^{137}\text{Cs}$  в верхних частях подстилки лишайников ограничивается санитарно-защитной зоной, в которой этот показатель в 1.3 раза больше, чем на фоновой площадке. В зоне наблюдения КоАЭС не отмечено накопление  $^{137}\text{Cs}$  в лишайниках по сравнению с фоновой территорией.

3. Положительная корреляция между удельной активностью  $^{137}\text{Cs}$  в верхней, средней и нижней частях подстилки лишайников указывает на сопряженность вертикального распределения этого радионуклида. Отсутствие взаимосвязи между удельной активностью  $^{137}\text{Cs}$  в подстилке лишайников и почвах под ними свидетельствует о поступлении этого радионуклида из атмосферных выпадений.

4. Отсутствие корреляционной зависимости между расстоянием от КоАЭС и удельной активностью  $^{137}\text{Cs}$  в подстилке лишайников указывает на преимущественную роль глобальных выпадений этого радионуклида, формирующих его пространственное распределение.

5. Выявлена статистически значимая взаимосвязь между скоростью ветра и удельной активностью  $^{137}\text{Cs}$  в верхней части подстилки, что может быть обусловлено большей интенсивностью атмосферных выпадений в таких локальных метеорологических условиях.

6. Верхняя часть подстилки лишайников выступает основным геохимическим барьером для  $^{137}\text{Cs}$  в большинстве исследованных биогеоценозов. В отдельных экотопах сосняков наибольшие уровни  $^{137}\text{Cs}$  приурочены к подстилочным горизонтам почвы.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-34-90103.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Матишов Д.Г., Матишов Г.Г. Радиационная экологическая океанология. Апатиты: Изд. КНЦ РАН, 2001. 417 с. [Matishov D.G., Matishov G.G. Radiatsionnaya ekologicheskaya okeanologiya (Radiation ecological oceanology). Apatity: Ed. KSC RAS, 2001. 417 p. (in Russ.)]
2. Евсеев А.В., Телелекова А.Д. Современное состояние экосистем Кольского полуострова // Арктика XXI век. Естественные науки. 2014. № 1. С. 33–37. [Evseev A.V., Teleleikova A.D. Current geoeological conditions of the Kola peninsula ecosystems // Arktika XXI century. Natural Sciences. 2014. № 1. P. 33–37. (in Russ.)]
3. Лурье А.А., Кубасова М.С. Экологическая оценка современного содержания  $^{137}\text{Cs}$  в почвах и некоторых биообъектах в лесах Архангельской области // Известия ТСХА. 2016. Вып. 1. С. 5–23. [Lurie A.A., Kubasova M.S. Ecological evaluation of  $^{137}\text{Cs}$  contents in soils and some biological objects in forests of the Arkhangelsk region // Izvestiya TSHA. 2016. Issue. 1. P. 5–23. (in Russ.)]
4. Кизеев А.Н. Содержание  $^{137}\text{Cs}$  и  $^{40}\text{K}$  в почвенно-растительном покрове в районе расположения Кольской атомной электростанции // Глобальный научный потенциал. 2016. № 5. С. 56–59. [Kizeev A.N. Content of  $^{137}\text{Cs}$  and  $^{40}\text{K}$  in soil and vegetation within proximity of the Kola nuclear power plant // Global scientific potential. 2016. № 5. P. 56–59.]
5. Михеева Е.В., Нифонтова М.Г. Радиоактивное загрязнение окружающей среды: биологические объекты как источник информации для оперативного и долгосрочного мониторинга // Технологии гражданской безопасности. 2008. № 1–2. С. 179–183. [Mikheeva E.V., Nifontova M.G. Radioactive environmental contamination: biological objects as the information source for operative and long term monitoring // Civil Security Technologies. 2008. № 1–2. P. 179–183. (in Russ.)]
6. Ежов А.Ю. Тяжелые металлы в растительном покрове Северо-Запада Кольского полуострова // Преподаватель XXI век. 2011. № 1. С. 221–226. [Yezhov A.Yu. Heavy metals in the vegetation cover of the North-West of the Kola Peninsula // Teacher of the XXI Century. 2011. № 1. P. 221–226. (in Russ.)]
7. Сухарева Т.А. Элементный состав талломов лишайника *Cladonia stellaris* в условиях атмосферного загрязнения // Тр. Карельского научного центра РАН. 2016. № 4. С. 70–82. [Sukhareva T.A. Elemental composition of thalli of the lichen *Cladonia stellaris* under air pollution // Proc. Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. 2016. № 4. P. 70–82. (in Russ.)]
8. Ганеева М.В., Законнов В.В., Ложкина Р.А. и др. Оценка загрязнения тяжелыми металлами малонаселенных территорий на примере Северо-Западного региона России // Экология человека. 2018. № 3. С. 4–9. [Gapeeva M.V., Zakonnov V.V., Lozhkina R.A. et al. Heavy metals pollution assessment of underpopulated regions using the example of the north-western region of // Human Ecology. 2018. № 3. P. 4–9. (in Russ.)] <https://doi.org/10.33396/1728-0869-2018-3-4-9>
9. Бязров Л.Г. Лишайники – индикаторы радиоактивного загрязнения. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2005. 476 с. [Byazrov L.G. Lishayniki – indicator of radioactive contamination (Lichens are indicators of radioactive contamination). Moscow: Association of scientific publications KMK, 2005. 476 p. (in Russ.)]
10. Нифонтова М.Г. Использование лишайников и мхов для оперативного определения радиоактивного загрязнения природной среды // Дефектоскопия, 2005. Т. 41. № 1. С. 80–84. [Nifontova M.G. Use of lichens and mosses for on-line testing of environmental radioactive contamination // Russian Journal of Nondestructive Testing. 2005. V. 41. № 1. P. 60–63. (In Russ.)]
11. Gómez-Guzmán J.M. et al. Level and origin of  $^{129}\text{I}$  and  $^{137}\text{Cs}$  in lichen samples (*Cladonia alpestris*) in central Sweden // J. Environ. Radioact. 2011. № 102. P. 200–205.
12. Цветнова О.Б., Щеглов А.И., Столбова В.В. К вопросу о методах биодиагностики в условиях радиоактивного загрязнения // Радиационная биология. Радиэкология. 2014. Т. 54. № 4. С. 423–431. [Tsvetnova O.B., Shcheglov A.I., Stolbova V.V. On the Problem of Biodiagnostics under Conditions of Radioactive Contamination // Radiats. biologiya. Radioecologiya. 2014. V. 54. № 4. P. 423–431. <https://doi.org/10.7868/S0869803114030163> (in Russ.)]
13. Куликов И.В., Молчанова И.В., Караваева Е.Н. Радиэкология почвенно-растительного покрова. Свердловск: УрО АН СССР, 1990. 173 с. [Kulikov I.V., Molchanova I.V., Karavaeva E.N. Radioecologiya pochvenno-rastitel'nogo pokrova (Radioecology of the soil and vegetation cover). Sverdlovsk: Ural Branch of the Academy of Sciences of the USSR, 1990. 173 p. (in Russ.)]
14. Кузьменкова Н.В. Оценка радиационного состояния почв и лишайников Северо-Западного побережья Кольского залива // Вестн. Моск. Ун-та. Серия 5. География. 2009. № 2. С. 32–36. [Kuzmenkova N.V. Evaluation of the radiological state of ecosystems on the north-western coast of the Kola bay // Bulletin of the Moscow University. Series 5. Geography. 2009. № 2. P. 32–36. (in Russ.)]
15. Нифонтова М.Г., Безель В.С., Рябкова К.А., Таршиц Г.И. Лишайники и мхи в радиэкологическом мониторинге // Инновационный потенциал естественных наук: Тр. междунар. науч. конф. 2006. Т. 2. С. 239–242. [Nifontova M.G., Bezel V.S., Ryabkova K.A., Tarshits G.I. Lichens and mosses in radioecological monitoring // Innovative potential of natural sciences: Tr. mezhdunar. nauch. konf. 2006. T. 2. P. 239–242. [Nifontova M.G., Bezel V.S., Ryab-

- kova K.A., Tarshis G.I.* Lishayniki i mkhi v radioekologicheskom monitoring (Lichens and mosses in radioecological monitoring) // Innovative potential of natural sciences: Proc. Int. Sci. Conf. 2006. V. 2. P. 239–242. (in Russ.)]
16. *Mattson L.J.S.* <sup>137</sup>Cs in the reindeer lichen *Cladonia alpestris*: deposition, retention and internal distribution, 1961–1970 // Health Phys. Press. 1975. V. 28. P. 233–248.
  17. *Puhakainen M., Rahola T., Heikkinen T., Illuka E.* <sup>134</sup>Cs and <sup>137</sup>Cs in lichen (*Cladonia stellaris*) in southern Finland // Boreal Environ. Res. 2007. № 12. P. 29–35.
  18. *Амозова Л.П., Глинский Н.А., Попов Н.Т., Потифоров А.И.* Содержание цезия-137 в почве, ягодах, грибах, лишайниках // Экологический атлас Мурманской области. Москва–Апатиты, 1999. С. 30, 38. [*Amozova L.P., Glinsky N.A., Popov N.T., Potiforov A.I.* Soderzhanie tseziya-137 v pochve, yzgodakh, gribakh, lishaynikakh (The content of cesium-137 in soil, berries, mushrooms, lichens) // Ecological atlas of the Murmansk region. Moscow–Apatity, 1999. P. 30, 38. (in Russ.)]
  19. *Телелева А.Д., Евсеев А.В.* Радионуклиды в природной среде Кольского полуострова // Эволюция и динамика геосистем. 2014. № 5. С. 89–94. [*Teleleva A.D., Evseev A.V.* Radionuklidy v prirodnoy srede Kol'skogo poluostrova (Radionuclides in the environment of the Kola Peninsula) // Evolution and Dynamics of Geosystems. 2014. № 5. P. 89–94. (in Russ.)]
  20. *Koivurova M., Leppanen A.-P., Kallio A.* Transfer factors and effective half-lives of <sup>134</sup>Cs and <sup>137</sup>Cs in different environmental sample types obtained from Northern Finland: case Fukushima accident // J. Environ. Radioact. 2015. № 146. P. 73–79.
  21. *Усачева А.А., Семенов И.Н., Мирошников А.Ю.* Распределение <sup>137</sup>Cs в растениях и почвах фоновых Западно-Сибирских ландшафтов тундры и тайги // Успехи совр. естествознания. 2016. № 9. С. 185–189. [*Usacheva A.A., Semenov I.N., Miroshnikov A.Yu.* Raspredeleniye <sup>137</sup>Cs v rasteniyakh i pochvakh fonovykh Zapadno-Sibirskikh landshaftov tundry i taygi (Distribution of <sup>137</sup>Cs in plants and soils of background West Siberian tundra and taiga landscapes) // Successes of Modern Natural Sciences. 2016. № 9. P. 185–189. (in Russ.)]
  22. *Михайловская Л.Н., Гусева В.П., Рукавишников О.В., Михайловская З.Б.* Техногенные радионуклиды в почвах и растениях наземных экосистем в зоне воздействия атомных предприятий // Экология. 2020. № 2. С. 110–118. [*Mikhailovskaya L.N., Guseva V.P., Rukavishnikova O.V., Mikhailovskaya Z.B.* Technogenic radionuclides in soils and plants of terrestrial ecosystems in the zone of impact from nuclear enterprises // Russ. J. Ecol. 2020. V. 51. № 2. P. 127–135. <https://doi.org/10.1134/S1067413620020095>]
  23. *Семенихина М.Е.* Некоторые аспекты радиоэкологического мониторинга объектов окружающей природной среды в районе размещения КАЭС // Вестн. МГТУ. 2006. Т. 9. № 5. С. 843–846. [*Semenikhina M.E.* Nekotoryye aspekty radioekologicheskogo monitoringa ob"yektov okruzhayushchey prirodnoy sredy v rayone razmesheniya KAES (Some aspects of radioecological monitoring of environmental objects in the area of the KNPP location) // Bulletin of MSTU. 2006. V. 9. № 5. S. 843–846. (in Russian)]
  24. *Кузьменкова Н.В.* Миграция и аккумуляция <sup>137</sup>Cs в ландшафтах Северо-Западной части Кольского полуострова: Автореф. дис. ... канд. геогр. наук. М., 2010. 25 с. [*Kuzmenkova N.V.* Migratsiya i akkumulyatsiya <sup>137</sup>Cs v landshaftakh Severo-Zapadnoy chasti Kol'skogo poluostrova (Migration and accumulation of <sup>137</sup>Cs in the landscapes of the Northwestern part of the Kola Peninsula): Author's abstract ... diss. candidate of geographic sciences. M., 2010. 25 p. (in Russ.)]
  25. *Воробьева Т.А., Евсеев А.В., Кузьменкова Н.В.* Радиогеохимические исследования состояния ландшафтов Кольского полуострова // Арктика: Экология и экономика. 2017. № 2. С. 17–26. [*Vorobieva T.A., Evseev A.V., Kuzmenkova N.V.* Radiogeochemical investigations of the Kola Peninsula landscapes // Arktika: Ecology and Economy. 2017. № 2. P. 17–26. (in Russ.)]
  26. *Попова М.Б., Манахов Д.В., Кизеев А.Н. и др.* Содержание и распределение <sup>137</sup>Cs в подзолах в районе расположения Кольской атомной электростанции // Почвоведение. 2020. № 7. С. 891–900. [*Popova M.B., Manakhov D.V., Lipatov D.N., et al.* Contents and distribution of <sup>137</sup>Cs in podzols in the area of the Kola nuclear power plant // Eurasian Soil Science. 2020. V. 53. № 7. P. 986–994. <https://doi.org/10.1134/S106422932007011X> (In Russ.)] <https://doi.org/10.31857/S0032180X20070114>
  27. *Нифонтова М.Г.* Лихено- и бриоиндикация радиоактивного загрязнения среды: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Пермь, 2003. 50 с. [*Nifontova M.G.* Likheno- i brioindikatsiya radioaktivnogo zagryazneniya sredy (Licheno- and bryoindication of radioactive contamination of the environment): Abstr. Diss. ... Doctor of Biological Sciences. Perm, 2003. 50 p. (in Russ.)]
  28. *Бязров Л.Г., Пельгунова Л.А.* Состав и соотношение химических элементов на разных по высоте поверхностях подстилки ягельного лишайника *Cladonia rangiferina* // Принципы экологии. 2016. № 2. С. 27–42. [*Vyazrov L.G., Pelgunova L.A.* Composition and ratio of the chemical elements on the surfaces different by height of reindeer lichen podetia *Cladonia rangiferina* // Princip. Ecol. 2016. № 2. P. 27–42. (in Russ.)] <https://doi.org/10.15393/j1.art.2016.4983>
  29. *Тюпкина Г.И., Окунева С.В., Корниенко И.П., Белецкий С.Л.* Биохимический состав лишайников – корма северных оленей на арктической территории // Инновационные технологии производства и хранения материальных ценностей для государственных нужд. 2019. № 12. С. 223–232. [*Tyupkina G.I., Okuneva S.V., Kornienko I.P., Beletsky S.L.* Biokhimicheskiy sostav lishaynikov – korma severnykh oleney na

- arkticheskoy territorii (Biochemical composition of lichens – food for reindeer in the Arctic territory) // Innovative technologies for the production and storage of material assets for state needs. 2019. № 12. P. 223–232. (in Russ.)]
30. Страховенко В.Д., Хожина Е.И., Щербов Б.Л. Распределение радиоцезия и микроэлементов в системе лишайник-субстрат и в теле лишайника // Геохимия. 2008. № 2. С. 141–150. [Strakhovenko V.D., Khozhina E.I., Shcherbov B.L. Distribution of radioactive Cs and trace elements in the lichen-substrate system and in the lichen body // Geochem. Int. 2008. V. 46. № 2. P. 116–124. (in Russ.)] <https://doi.org/10.1007/s11476-008-2002-x>

## Accumulation of $^{137}\text{Cs}$ by *Cladonia* Lichens in the Impact Zone of the Kola Nuclear Power Plant

M. B. Popova<sup>a,#</sup>, D. N. Lipatov<sup>b</sup>, D. V. Manakhov<sup>b</sup>, A. N. Kizeev<sup>c</sup>, and S. F. Ushamova<sup>d</sup>

<sup>a</sup> Vernadsky Institute of Geochemistry and Analytical Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>b</sup> Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

<sup>c</sup> North-West Scientific Center for Hygiene and Public Health of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, St. Petersburg, Russia

<sup>d</sup> Lapland State Nature Biosphere Reserve, Murmansk region, Monchegorsk, Russia

<sup>#</sup>E-mail: marbpop@gmail.com

The accumulation of  $^{137}\text{Cs}$  and its stratification in *Cladonia* lichens growing in the Kola nuclear power plant area have been studied. For this, samples of reindeer lichens were selected at 12 test sites in the sanitary protection zone of the station, the observation zone and in the background area. The specific activities of  $^{137}\text{Cs}$  in the samples were determined using a scintillation gamma spectrometer. The weighted average specific activities of  $^{137}\text{Cs}$  in *Cladonia* lichens were 22.3–104.8 Bq/kg, while most of the radiocaesium was concentrated in the upper layers of the lichen. Statistical data processing using a single-sample t-test, Spearman's coefficient, and cluster analysis indicated the dominant role of global fallout in the  $^{137}\text{Cs}$  input into the lichens, while the possible impact of the Kola nuclear power plant on this process is limited to the sanitary protection zone.

**Keywords:** *Cladonia* lichens,  $^{137}\text{Cs}$ ,  $^{40}\text{K}$ , Kola Nuclear Power Plant, correlation analysis

## КРАТКОЕ СООБЩЕНИЕ

УДК 663.12:579.24:575.2:539.1.047

## КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ ДРОЖЖЕВЫХ КЛЕТОК

© 2022 г. В. Г. Петин<sup>1,\*</sup>, А. В. Рубанович<sup>2</sup><sup>1</sup> Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, Обнинск, Россия<sup>2</sup> Институт общей генетики РАН им. Н.И. Вавилова, Москва, Россия

\*E-mail: vgpetin@yahoo.com

Поступила в редакцию 13.04.2022 г.

Принята к публикации 29.06.2022 г.

Представлен обзор опубликованных результатов по генетической нестабильности дрожжевых клеток, количественно определяемой задержкой формирования колоний выжившими после облучения клетками. Показано, что генетическая нестабильность определяется плоидностью клеток независимо от их радиочувствительности и способности клеток восстанавливаться от радиационных повреждений. Показано, что ОБЭ  $\alpha$ -частиц  $^{239}\text{Pu}$  практически одинакова как для выживаемости клеток, так и для генетической нестабильности диплоидных и гаплоидных дрожжевых клеток.

**Ключевые слова:** генетическая нестабильность, ионизирующее излучение, выживаемость, дрожжевые клетки, гаплоидные и диплоидные клетки

DOI: 10.31857/S0869803122050113

Данное сообщение, посвященное краткому анализу результатов, опубликованных по генетической нестабильности, основано на монографии [1]. В этой работе генетическую нестабильность количественно оценивали задержкой формирования колоний выжившими после облучения клетками. В последние десятилетия опубликовано много данных, свидетельствующих об отдаленных эффектах радиации, включая индуцированную геномную нестабильность в виде различных нарушений генетического аппарата в потомках многократно поделившихся клеток, подвергавшихся облучению как *in vitro*, так и *in vivo* [1–3]. Во многих публикациях наряду с термином “геномная нестабильность” используют термин “хромосомная нестабильность”, а в общем виде – “генетическая нестабильность”. К проявлениям генетической нестабильности наряду с дестабилизацией хромосом, соматическими мутациями, гетерогенности среди потомства облученных клеток относят и отсроченную репродуктивную гибель клеток, которая феноменологически проявляется задержкой формирования колоний выжившими после облучения клетками. Закономерности этого феномена (эффект “до-растания”) изучены для гаплоидных и диплоидных дрожжевых клеток [4–6]. В этих работах показано, что количественно определяемая таким

образом генетическая нестабильность достигает 100% для диплоидных и лишь 20% для гаплоидных штаммов. Недостатком этих работ было использование негомозиготных гаплоидных и диплоидных штаммов дрожжей. Кроме того, авторы не использовали радиочувствительные мутанты. Был сформулирован вывод, что генетическая нестабильность связана с репарацией ДНК повреждений, которая в большей степени характерна для диплоидных, а не гаплоидных дрожжевых клеток [6]. Однако многие новые результаты демонстрируют необходимость замены этой парадигмы [1]. В этой работе в качестве количественного теста генетической нестабильности авторы использовали процент колоний, образованных позже контроля. Материалы и методы, с помощью которых получены описываемые ниже результаты, детально описаны [1].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Таблица 1 включает количественные параметры, характеризующие радиочувствительность ( $\text{LD}_{90}$ , Гр) дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* дикого типа и их радиочувствительных *rad*-мутантов, ОБЭ  $\alpha$ -частиц для выживаемости и генетической нестабильности клеток, а также максимальную генетическую нестабильность, опре-

**Таблица 1.** Количественные параметры, характеризующие радиочувствительность гаплоидных и диплоидных дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae*, их генетическую нестабильность и ОБЭ  $\alpha$ -частиц для выживаемости и генетической нестабильности ( $\pm$  указывает SE)

**Table 1.** Quantitative parameters characterizing radiosensitivity of haploid and diploid yeast cells of *Saccharomyces cerevisiae*, their genetic instability and RBE of  $\alpha$ -particles for survival and genetic instability ( $\pm$  indicates SE)

Штамм	Генотип	ЛД <sub>90</sub> , Гр	ОБЭ $\alpha$ -частиц для выживаемости клеток	ОБЭ $\alpha$ -частиц для генетической нестабильности клеток	Максимальная генетической нестабильности, %
S288C	RAD	160 $\pm$ 15	2.1 $\pm$ 0.3	1.8 $\pm$ 0.2	30
XS800	RAD/RAD	930 $\pm$ 28	4.5 $\pm$ 0.4	4.7 $\pm$ 0.3	100
XS774-4d	<i>rad51</i>	65 $\pm$ 5	2.1 $\pm$ 0.2	1.8 $\pm$ 0.1	20
XS806	<i>rad51/rad51</i>	150 $\pm$ 12	2.5 $\pm$ 0.1	2.5 $\pm$ 0.3	100
g160/2d	<i>rad52</i>	132 $\pm$ 14	2.7 $\pm$ 0.3	2.0 $\pm$ 0.4	20
XS1898	<i>rad52/rad52</i>	220 $\pm$ 19	2.7 $\pm$ 0.4	1.6 $\pm$ 0.2	100
g218/7c	<i>rad54</i>	45 $\pm$ 6	2.4 $\pm$ 0.1	2.0 $\pm$ 0.3	20
L9	<i>rad54/rad54</i>	93 $\pm$ 11	1.8 $\pm$ 0.1	2.6 $\pm$ 0.3	100

деляемую выходом на плато кривой зависимости доли колоний, сформированных позже контроля, от дозы ионизирующего излучения.

Видно, что ОБЭ  $\alpha$ -частиц для выживаемости диплоидного штамма дикого типа (RAD/RAD) составляет  $4.5 \pm 0.4$  и не отличается от ОБЭ  $4.7 \pm 0.3$  для генетической нестабильности. Значения ОБЭ для всех гаплоидных штаммов и радиочувствительных диплоидных *rad*-мутантов идентичны для выживаемости клеток и для их генетической нестабильности, случайно варьируя в диапазоне 1.8–2.7. Приведенные данные указывают на участие систем пострадиационного восстановления в механизме формирования ОБЭ. Ранее эти данные были получены для выживаемости клеток [7, 8], а для генетической нестабильности они впервые описаны в работе [1].

Из табл. 1 видно, что максимальная генетическая нестабильность гаплоидных дрожжевых клеток, характеризующихся экспоненциальными кривыми выживаемости, с ростом дозы ионизирующего излучения достигает 20–30%, остальные 70–80% клеток образуют на питательной среде колонии одновременно с контролем. Кривые выживаемости диплоидных дрожжевых клеток ди-

кого типа (RAD/RAD), способных к репарации ДНК повреждений, имели сигмоидную форму, и их максимальная генетическая нестабильность составляла 100%. Очевидно также, что максимальная генетическая нестабильность радиочувствительных диплоидных мутантов, дефектных по репарации ДНК повреждений, также составляла 100%. Аналогичные данные получены при облучении штаммов дикого типа и их УФ-чувствительных мутантов (табл. 2).

На основании экспериментальных данных, суммированных в табл. 1 и 2, можно констатировать, что генетическая нестабильность дрожжевых клеток детерминирована плоидностью клеток, а не их способностью к репарации. Действительно, независимо от качества и вида излучения как резистентные, так и радио- и УФ-чувствительные диплоидные штаммы, в отличие от гаплоидных, демонстрируют 100% генетическую нестабильность, когда все выжившие после облучения клетки формировали на питательной среде колонии позже контроля.

На основании приведенных данных можно сделать вывод, что механизм различного проявления генетической нестабильности гаплоидными

**Таблица 2.** Радиобиологические параметры гаплоидных и диплоидных дрожжевых клеток разного генотипа после облучения УФ-светом ( $\pm$  указывает *SE*)**Table 2.** Radiobiological parameters of haploid and diploid yeast cells of different genotypes after exposure to UV light ( $\pm$  indicates *SE*)

Штамм	УФ-чувствительный локус	ЛД 1%, Дж/м <sup>2</sup>	Максимальная генетическая нестабильность, %
S288C	RAD	600	30
XS800	RAD/RAD	985	100
XC6	<i>rad6</i>	76.3	40
XS1956	<i>rad6/rad6</i>	405	100
21-LMG-3031	<i>rad18</i>	155.0	55
XS1924	<i>rad18/rad18</i>	645	100
T1	RAD/RAD	630	100
LMG318	<i>rad2</i>	64.2	50
T2	<i>rad2/rad2</i>	60	100

и диплоидными дрожжевыми клетками, выживающими после облучения, не связан со способностью клеток восстанавливаться от радиационных повреждений, а может быть связан с некоторыми хромосомными повреждениями, например, делециями или даже потерей хромосом, — событиями, которые в большей степени смертельны для гаплоидных, а не диплоидных клеток. Именно поэтому генетическая нестабильность гаплоидных клеток проявляется в значительно меньшей степени, чем диплоидных независимо от их радиочувствительности или способности клеток восстанавливаться от радиационных повреждений.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Евстратова Е.С., Петин В.Г.* Радиобиологические эффекты и генетическая нестабильность клеток. М.: ГЕОС, 2021. 296 с. [*Evstratova E.S., Petin V.G.* Radiobiological Effects and Genetic Instability of Cells. М.: GEOS, 2021. 296 p. (In Russ.)]
2. *Saenko A.S., Zamulaeva I.A.* Features of somatic gene mutagenesis in different age groups of persons exposed to low dose radiation // Multiple stressors: a Challenge for the Future / Eds C. Mothersill, I. Mosse, C. Seymour. Springer, 2007. P. 343–349.
3. *Zheng D.-O., Zhang K., Wu X.-C.* Global analysis of genomic instability caused by DNA replication stress in *Saccharomyces cerevisiae* // PNAS. 2016. V. 113. № 50. P. 8114–8121.
4. *Капульцевич Ю.Г., Корогодин В.И., Петин В.Г.* Анализ радиобиологических реакций дрожжевых клеток. I. Кривые выживания и эффект дорастания // Радиобиология. 1972. Т. 12. № 2. С. 267–271. [*Kapultsevich Yu.G., Korogodin V.I., Petin V.G.* Analysis of radiobiological reactions of yeast cells. I. Survival curves and the effect of the delayed colony formation // Radiobiology. 1972. V. 12. № 2. P. 267–271. (In Russ.)]
5. *Капульцевич Ю.Г.* Количественные закономерности лучевого поражения клеток. М.: Атомиздат, 1978. 232 с. [*Kapultsevich Yu.G.* Quantitative Patterns of Radiation Damage to Cells. М.: Atomizdat, 1978. 232 p. (In Russ.)]
6. *Корогодин В.И.* Феномен жизни. Избранные труды. Т. 1. М.: Наука, 2010. С. 290–312. [*Korogodin V.I.* Phenomenon of life. Selected works. V. 1. М.: Nauka, 2010. P. 290–312. (In Russ.)]
7. *Петин В.Г.* Генетический контроль модификаций радиочувствительности клеток. М.: Энергоатомиздат, 1987. 204 с. [*Petin V.G.* Genetic Control of Cell Radiosensitivity Modifications. М.: Energoatomizdat, 1987. 204 p. (In Russ.)]
8. *Красавин Е.А.* Проблемы ОБЭ и репарация ДНК. М.: Энергоатомиздат, 1989. 192 с. [*Krasavin E.A.* Problems of RBE and DNA Repair. М.: Energoatomizdat, 1989. 192 p. (In Russ.)]

## Quantitative Approach to the Assessment of Yeast Cell Genetic Instability

V. G. Petin<sup>a,#</sup> and A. V. Rubanovich<sup>b</sup>

<sup>a</sup> *A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiology Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia*

<sup>b</sup> *N. Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

<sup>#</sup> *E-mail: vgpetin@yahoo.com*

This work is devoted to a review of published results on the genetic instability of yeast cells, quantified by the delay in the formation of colonies by cells surviving after irradiation. It was shown that genetic instability is determined by cell ploidy regardless of their radiosensitivity and cell ability to recover radiation damage. It has been shown that the RBE of <sup>239</sup>Pu  $\alpha$ -particles is practically the same for both cell survival and genetic instability of diploid and haploid yeast cells.

**Keywords:** genetic instability, ionizing radiation, survival, yeast cells, haploid and diploid cells

## ПАМЯТИ АЖУБА ИБРАГИМОВИЧА ГАЗИЕВА

DOI: 10.31857/S0869803122050095



Ушел из жизни Ажуб Ибрагимович Газиев (20.05.1937–13.07.2022), доктор биологических наук (1975), профессор (1984), главный научный сотрудник Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН (Пушино Московской обл.), член-корреспондент РАЕН, экс-президент Радиобиологического общества при РАН.

Ажуб Ибрагимович родился 20.05.1937 г. в Дагестане. Высшее химико-биологическое образование получил в Ташкентском фармацевтическом институте (Ленинский стипендиат), одновременно учился на химическом факультете Ташкентского государственного университета (1957–1962 гг.). В 1965 г. закончил аспирантуру по биохимии, в 1966 г. защитил кандидатскую диссертацию на тему “Кинетика обновления серосодержащих соединений в опухоли и в организме опухоленосителя”. В 1965–1966 гг. — заведующий Лабораторией биохимии НИИ рентгенологии, радиологии и онкологии Минздрава Узбекской ССР.

С 1966 г. А.И. Газиев работал в Институте биологической физики АН СССР (г. Пушкино), занимался изучением повреждения и репарации генома клеток организмов, подвергнутых воздействию ионизирующих излучений. В 1975 г. защитил докторскую диссертацию на тему “Мо-

лекулярные механизмы репарации одонитевых разрывов ДНК, индуцируемых гамма-радиацией”.

В 1977–1989 гг. А.И. Газиев — заместитель председателя Президиума Пушкинского научного центра АН СССР. В 1983–1989 гг. являлся куратором направления “Действие малых доз радиации” Международной программы “Биофизика” СЭВ. В 1979–1981 гг., в процессе выполнения исследований по радиационной биологии термофильных микроорганизмов (с финансовой поддержкой Главмикробиопрома СССР), под его руководством были получены термоустойчивые ДНК-полимеразы, которые в последующие годы нашли широкое применение в проведении полимеразных цепных реакций.

После аварии на ЧАЭС в 1986 г. А.И. Газиев принимал самое активное участие в научных исследованиях, направленных на изучение механизмов хронического действия радиации и ликвидацию последствий радиационной аварии, подготовил программу совместных работ институтов АН СССР с институтами АН УССР и АН БССР по изучению последствий радионуклидного загрязнения (Постановление бюро ОББ и ХФАС АН СССР от 08.09.1986 г.).

Ажуб Ибрагимович Газиев с 1977 г. был одним из самых активных членов Научного совета по

проблеме “Радиобиология” АН СССР, в дальнейшем – Научного совета РАН по радиобиологии, куратором Секции “Молекулярная радиобиология. Радиационная генетика” и заместителем председателя Научного совета. А.И. Газиев – один из организаторов в 1989 г. Радиобиологического общества при АН СССР (впоследствии – РАН), избирался Президентом Общества (1989–1998 гг. и 2003–2021 гг.). Выполнял обязанности заместителя Главного редактора журнала РАН “Радиационная биология. Радиоэкология”, был членом редколлегии этого журнала, был экспертом РФФИ и ФАНО, а также членом Экспертной комиссии РАН по радиобиологии.

А.И. Газиев – автор и соавтор более 300 научных работ, в том числе более 10 аналитических обзоров по молекулярной радиобиологии, соавтор монографии “Current topics in ionizing radia-

tion research” (Ed. M. Nenoi. InTech, Croatia, 2012). Под его руководством защищены одна докторская диссертация и 23 диссертации кандидата биологических наук.

Являлся членом Международной академии информатизации при ООН (атомная радиация), действительным членом Нью-Йоркской академии наук, Соросовский профессор. Имеет правительственные награды (три медали).

Российские радиобиологи, члены Научного совета РАН по радиобиологии, Радиобиологического общества при РАН, сотрудники ИТЭБ РАН и других научных коллективов, коллеги и друзья глубоко скорбят об этой утрате.

Ажуб Ибрагимович Газиев – Учитель, Наставник, Коллега и замечательный человек – останется в нашей памяти.