

---

---

# СОДЕРЖАНИЕ

---

---

Том 62, номер 1, 2022

---

---

## Радиационная генетика

Цитогенетический анализ культур лимфоцитов периферической крови пациента в отдаленные сроки после аварийного облучения с помощью трехцветного FISH-метода

*Е. Е. Ломоносова, В. Ю. Нугис, Г. П. Снигирёва, М. Г. Козлова,  
В. А. Никитина, И. А. Галстян*

5

---

## Молекулярная радиобиология

Влияние ионизирующего излучения на теломеры

*В. С. Макеева*

18

---

## Радиобиологические основы лучевой терапии опухолей

Связь между динамикой роста перевивной карциномы Льюиса у мышей и изменением активности генов и некодирующих РНК после рентгеновского облучения в малых дозах

*В. Ф. Михайлов, Д. В. Салеева, Л. В. Шуленина, Н. Ф. Раева,  
Л. М. Рождественский, Г. Д. Засухина*

28

---

## Модификация радиационных эффектов

Вопросы организации разработок противолучевых средств в России в аспекте медикаментозного обеспечения безопасности при радиационных инцидентах

*Л. М. Рождественский, Н. А. Богданенко, Е. В. Ильченко,  
Д. В. Гурьев, Ю. А. Федотов, А. Н. Осипов*

42

Сочетанное действие защитных агентов и ускоренных ионов углерода на поведение мышей

*С. С. Сорокина, С. И. Паскевич, С. И. Заичкина, А. Е. Мальков, В. А. Пикалов*

49

---

## Комбинированные воздействия

Отдаленные нейробиологические эффекты комбинированного воздействия антиортостатического вывешивания и ионизирующих излучений

*К. Б. Лебедева-Георгиевская, А. А. Перевезенцев, О. С. Кузнецова,  
В. С. Кудрин, А. А. Масанова, А. С. Штемберг*

55

---

## Неионизирующие излучения

Отдаленные эффекты хронического воздействия электромагнитных полей базовых станций систем сотовой связи на гемопоэз крыс

*С. Ю. Перов, В. С. Орлова, Р. З. Лифанова, А. А. Кислякова*

70

---

## Радиоэкология

Программное средство для оценки мощности поглощенной дозы  
в сосновых насаждениях после аварийных радиоактивных выпадений

*Т. В. Переволоцкая, А. Н. Переволоцкий, С. А. Гераськин*

75

Комплексная оценка влияния различных видов агрохимикатов  
на поступление  $^{137}\text{Cs}$  в растения гороха

*О. Ю. Баланова, Д. Г. Свириденко, А. Н. Ратников, С. П. Арышева,  
А. В. Панов, Л. И. Ратникова*

86

---

## Радионуклиды

Естественные радионуклиды ( $^{226}\text{Ra}$ ,  $^{232}\text{Th}$ ,  $^{40}\text{K}$ ) в почвообразующих породах  
Европейской территории России

*Е. В. Мингареева, Б. Ф. Апарин, С. В. Коровин, Н. И. Санжарова, Е. Ю. Сухачева*

96

---

## Хроника

Памяти Анатолия Георгиевича Коноплянникова

111

---

---

# Contents

---

---

Vol. 62, No. 1, 2022

---

---

## Radiation Genetics

Analysis Peripheral Blood Lymphocytes Cultures of Patient in Long Terms after Emergency Irradiation with the Help of Three-Color FISH Method

*E. E. Lomonosova, V. Yu. Nugis, G. P. Snigiryova, M. G. Kozlova, V. A. Nikitina, I. A. Galstyan*

5

---

## Molecular Radiobiology

Ionizing Radiation Effects on Telomeres

*V. S. Makeeva*

18

---

## Radiobiological Bases of Radiation Therapy of Tumors

The Connection Between the Growth Dynamics of Transplanted Lewis Carcinoma in Mice and Changes in the Activity of Genes and Non-Coding RNAs after Low-Dose Irradiation

*V. F. Mikhailov, D. V. Saleeva, L. V. Shulenina, N. F. Raeva, L. M. Rozhdestvensky, G. D. Zasukhina*

28

---

## Modification of Radiation Effects

Issues of the Organization of the Development of Anti-Radiation Agents in Russia in the Aspect of Drug Safety in Case of Radiation Incidents

*L. M. Rozhdestvensky, N. A. Bogdanenko, E. V. Ilchenko, D. V. Guryev, Yu. A. Fedotov, A. N. Osipov*

42

Combined Effect of Protective Agents and Accelerated Carbon Ions on the Behavior of Mice

*S. S. Sorokina, S. I. Paskevich, S. I. Zaichkina, A. E. Malkov, V. A. Pikalov*

49

---

## Combined Effects

Long-Term Neurobiological Effects of Combined Exposure to Anti-Orthostatic Hanging and Ionizing Radiation

*K. B. Lebedeva-Georgievskaya, A. A. Perevezentsev, O. S. Kuznetsova, V. S. Kudrin, A. A. Masanova, A. S. Shtemberg*

55

---

## Non-Ionizing Radiation

Electromagnetic Field Chronic Exposure Effects of Cellular Base Stations on Rat Hemopoiesis

*S. Yu. Perov, V. S. Orlova, R. Z. Lifanova, A. A. Kislyakova*

70

---

## Radioecology

Software Tool for Estimating the Absorbed Dose Rate in Pine Stands in Case of Accidental Radioactive Fallout

*T. V. Perevolotskaya, A. N. Perevolotsky, S. A. Geras'kin*

75

Comprehensive assessment of the Impact of Various Types of Agrochemicals  
on the Intake of  $^{137}\text{Cs}$  in Pea Plants

*O. Yu. Balanova, D. G. Sviridenko, A. N. Ratnikov, S. P. Arysheva,  
A. V. Panov, L. I. Ratnikova*

86

---

### **Radionuclides**

Natural Radionuclides ( $^{226}\text{Ra}$ ,  $^{232}\text{Th}$ ,  $^{40}\text{K}$ ) in the Soil-Forming Rocks  
of the European Territory of Russia

*E. V. Mingareeva, B. F. Aparin, S. V. Korovin, N. I. Sanzharova, E. Yu. Sukhacheva*

96

---

### **Chronicle**

In Memory of Anatoly Georgievich Konoplyannikov

111

---

---

РАДИАЦИОННАЯ  
ГЕНЕТИКА

УДК 612.112.94:575.224.23:614.876:57.087.1:539.1.047

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КУЛЬТУР ЛИМФОЦИТОВ  
ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТА В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ  
ПОСЛЕ АВАРИЙНОГО ОБЛУЧЕНИЯ С ПОМОЩЬЮ  
ТРЕХЦВЕТНОГО FISH-МЕТОДА

© 2022 г. Е. Е. Ломоносова<sup>1</sup>, В. Ю. Нугис<sup>1,\*</sup>, Г. П. Снигирёва<sup>2</sup>, М. Г. Козлова<sup>1</sup>,  
В. А. Никитина<sup>1</sup>, И. А. Галстян<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Государственный научный центр Российской Федерации –  
Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА, Москва, Россия  
<sup>2</sup>Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко  
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

\*E-mail: nugisvju@list.ru

Поступила в редакцию 18.08.2021 г.

После доработки 04.11.2021 г.

Принята к публикации 09.11.2021 г.

Представлены результаты цитогенетического анализа с использованием в основном трехцветного FISH-окрашивания хромосом лимфоцитов периферической крови одного пациента, подвергнутого облучению в результате аварии на Чернобыльской АЭС в первоначально оцененной по частоте дицентриков дозе, равной 3.2 Гр. Материал был получен в общем временном промежутке 9053–12554 дней (24.8–34.4 года) после радиационного воздействия. Не всегда совместно во все сроки были использованы наборы ДНК-зондов к {1, 4, 12} и {2, 3, 8} парам хромосом. За весь период наблюдения геномная частота транслокаций (суммарно полных и неполных) статистически значимо не изменялась. Ретроспективные оценки дозы были произведены по полученным ранее *in vitro* зависимостям доза–эффект и располагались в диапазонах от 1.98 до 2.44 Гр и от 2.14 до 2.67 Гр при анализе метафаз всех клеток и только стабильных клеток соответственно. Обсуждается проблема учета клональных клеток с транслокациями хромосом.

**Ключевые слова:** культура лимфоцитов периферической крови, острое облучение, трехцветный FISH-метод, транслокации, ретроспективная оценка дозы облучения

DOI: 10.31857/S0869803122010064

В настоящее время для цитогенетической ретроспективной оценки дозы предлагается использовать цельнохромосомное FISH-окрашивание хромосом лимфоцитов периферической крови [1–5]. При этом наиболее часто применяется так называемый одноцветный вариант данной методики [6], хотя на самом деле подсчитывается число двуцветных структур, возникающих при обменах между обычно двумя-тремя парами каких-либо крупных хромосом, которые подверглись гибридизации с олигонуклеотидными ДНК-пробами, мечеными определенным флуоресцентным красителем, и остальными хромосомами, контрокрасителями с помощью других флуоресцентных красителей, например, DAPI (4',6-диамидино-2-фенилиндол) или йодида пропидия.

По-видимому, первая ясная демонстрация эффективности ретроспективного восстановления дозы с помощью FISH-метода была показана через 6 и 11 лет после инцидента на примере рабоче-

го, пострадавшего от ингаляционного поступления окиси трития, у которого доза на все тело по результатам измерения трития в моче и исходной частоты дицентриков в культуре лимфоцитов периферической крови составляла 0.47 и 0.38 Гр соответственно [7]. Увеличение времени после облучения не привело к уменьшению частоты FISH-регистрируемых транслокаций, а оценка дозы при объединении результатов обоих цитогенетических исследований была равна 0.48 Гр. В работе [8] представлены примеры нескольких других случаев удачного применения данного подхода в сравнении с данными исходной физической дозиметрии (0.30–0.56 Гр).

Для цитогенетической ретроспективной оценки дозы по частотам FISH-регистрируемых транслокаций, как и для оценки дозы в ближайшие сроки после облучения по частотам дицентриков, используют соответствующие кривые до-

за-эффект, полученные после облучения крови здоровых доноров *in vitro* [1, 8–11].

Однако при одноцветном FISH-варианте метода идентификация перестроек возможна только между FISH-окрашенными и контрокрашенными хромосомами. Обмены между самими FISH-окрашенными хромосомами оказываются неучтенными. Поэтому с целью увеличить число регистрируемых транслокаций, способствовать улучшению оценки радиочувствительности и выявлению сложных перестроек хромосом предложили использовать FISH-окрашивание различных комбинаций отдельных хромосом с помощью разных флуоресцентных красителей [12–15].

В настоящей работе представлены результаты цитогенетического анализа с использованием в основном трехцветного FISH-окрашивания хромосом лимфоцитов периферической крови одного пациента, подвергшегося облучению в результате аварии на Чернобыльской АЭС в общем временном промежутке 24.8–34.4 года после радиационного воздействия. Ранее нами с использованием трехцветного FISH-метода были получены кривые доза-эффект для суммарной частоты транслокаций во всех и только стабильных клетках в культурах лимфоцитов периферической крови трех здоровых доноров после  $\gamma$ -облучения *in vitro* [16]. Эти зависимости были использованы для ретроспективной оценки дозы у данного пациента.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Материалом для цитогенетических исследований служила кровь, взятая из кубитальной (средней локтевой) вены в различные сроки после радиационного воздействия у пациента Г.О.И. (1960 г. р., УКН 1047), пострадавшего при ликвидации аварии на Чернобыльской АЭС в 1986 г. Он был оператором центрального зала блока № 4 и в момент аварии находился в подсобном помещении за тонкой перегородкой в 20 м от реактора. Через 20 мин после того, как помещение заполнилось паром, он покинул разрушенный блок. Через 1 ч после аварии возникли слабость, головная боль, тошнота и рвота, продолжавшаяся в течение 2 сут. Жидкий стул был в течение первых суток. По данным цитогенетического исследования культуры лимфоцитов периферической крови средняя доза облучения на все тело по частоте дицентриков составила 3.2 Гр. Доза на щитовидную железу равнялась 11.28 Зв. После проведенного лечения в специализированной клинике пациенту был поставлен следующий диагноз: ОЛБ III степени тяжести от преимущественно внешнего относительно равномерного  $\gamma$ - $\beta$ -облучения, аппликации и инкорпорации радионуклидов ( $^{131}\text{I}$  – 65 МБк), костномозговой синдром II степени, орофарингеальный синдром II степени, местные

лучевые поражения I, II и III степеней тяжести с поражением 8, 20 и 5% поверхности кожных покровов соответственно (грудь, предплечья, живот, правое бедро и обе ноги); острый гипотиреоз (по лабораторным данным). В отдаленный период после радиационного воздействия пациент подвергался многократным клиническим обследованиям, во время которых и производился забор крови для цитогенетических анализов.

Материал для данного исследования был получен в общем временном промежутке 9053–12554 дней (24.8–34.4 года) после радиационного воздействия.

Постановку в стерильных условиях культур лимфоцитов периферической крови производили по следующей методике. После самопроизвольного осаждения эритроцитов лейкоцитарную пленку с частью плазмы (общий объем 1 мл) добавляли к 9 мл среды RPMI 1640 с GlutaMAX<sup>TM</sup>-I (“Thermo Fisher Scientific”, США), содержащую также фитогемагглютинин в конечной концентрации 20 мкг/мл (ФГА-П, “ПанЭко”, Россия) и антибиотики стрептомицин и пенициллин (растворены предварительно в среде). Культивирование производили в стерильных культуральных флаконах 25 см<sup>2</sup> (“NUNC”) в вертикальном положении. Для того, чтобы избежать появления в культурах естественного числа метафаз во втором митозе, время инкубации в термостате при 37°C составило 48 ч. За 2–2.5 ч до его окончания в культуральную среду добавляли колхицин (0.5 мкг/мл) для остановки протекания митозов в стадии метафазы.

Препараты хромосом готовили принятым в лаборатории стандартным способом [16].

Для выполнения FISH-окрашивания хромосом использовали готовые наборы цельнохромосомных ДНК-зондов фирмы “MetaSystems” (Германия). Однако в разные сроки после радиационного воздействия они могли быть различными: одноцветные ДНК-зонды для 1, 4 и 12 пар хромосом (1 раз), трехцветные ДНК-зонды для 1, 4 и 12 пар хромосом (5 раз), параллельно два набора трехцветных ДНК-зондов к {1, 4, 12} и {2, 3, 8} парам хромосом (5 раз). Контркрасителем служила флуоресцентная краска DAPI.

Отметим, что суммарно в этих наборах хромосом относительное содержание ДНК почти совпадает: в соответствии с данными, приведенными в рекомендациях [1], доля ДНК в них по отношению к мужскому диплоидному набору хромосом равняется 0.1917 и 0.1966 соответственно.

При обработке и окраске препаратов хромосом руководствовались фирменными инструкциями, прилагаемыми к наборам.

Для автоматического поиска метафаз на разных препаратах и осуществления собственно цитогенетического исследования пользовались си-

стемой “Метафер 4” (фирма “MetaSystems”, Германия). Критериями отбора метафаз для анализа служили наличие в них квазидиплоидного числа хромосом (40–46) и полный набор всех FISH-окрашенных хромосом с учетом всей их суммарной длины. Это согласуется с данными работы [11], показавшей, что при учете метафаз только с 46 центромерами частота транслокаций была сравнима с их уровнем при анализе метафаз с 38–46 центромерами. В соответствии с таким подходом метафазы, содержавшие делеции по FISH-окрашенным хромосомам, не вошли в итоговые результаты анализа, которые содержали только перестройки хромосомного типа, в продукции которых участвовали FISH-окрашенные участки или целые хромосомы (все транслокации, инсерции, инверсии, дицентрики, центрические кольца, ацентрики).

Перевод наблюдаемых частот транслокаций в геномные частоты с целью возможности их сравнения осуществляли с помощью соответствующих уравнений для одноцветного и трехцветного методов [1]. Уточним, что геномная частота в данном случае связана с геном-эквивалентной экстраполяцией.

При проведении цитогенетического анализа учитывали нахождение aberrаций хромосом в стабильных и нестабильных клетках. К цитогенетически стабильным клеткам относили неабберрантные метафазы и метафазы, содержавшие только стабильные перестройки хромосом – реципрокные транслокации, перичентрические инверсии, инсерции (вставки), контрокрашенные атипичные хромосомы. В нестабильных клетках могли находиться только нестабильные aberrации хромосом – FISH-окрашенные и контрокрашенные дицентрики, центрические и ацентрические кольца, парные фрагменты – или они же в сочетании со стабильными перестройками. Таким образом, при определении стабильности клеток учитывали не только aberrации по FISH-регистрируемым, но и по видимым контрокрашенным хромосомам. При этом, если не удавалось произвести точную идентификацию любых контрокрашенных перестроек, то такие клетки считались стабильными при отсутствии или стабильности FISH-окрашенных aberrаций.

Для статистической обработки полученных результатов (сравнение средних и регрессионный анализ) использовали пакет программ Statistica 6.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В табл. 1 представлены результаты цитогенетического анализа культур лимфоцитов периферической крови пациента Г.О.И. в отдаленные сроки после радиационного воздействия. В ней показаны как реально обнаруженные частоты

aberrаций хромосом, так и геномные частоты транслокаций, рассчитанные в зависимости от использованного набора ДНК-зондов по соответствующим формулам [1]. Следует обратить внимание на то, что наблюдались метафазные клетки с обменом дистальными участками между тремя хромосомами как бы “по кругу”, т.е. происходили три разрыва в трех хромосомах, а затем возникали двухцветные структуры следующего вида: FISH-окрашенный “краской 1” центромерный участок + контрокрашенный бесцентромерный участок, FISH-окрашенный “краской 2” центромерный участок + FISH-окрашенный “краской 1” бесцентромерный участок, контрокрашенный центромерный участок + FISH-окрашенный “краской 2” бесцентромерный участок. Обнаружение таких структур возможно только при трехцветном (мультицветном) FISH-окрашивании хромосом. Как известно, при одной простой транслокации происходит два разрыва в двух хромосомах, при двух независимых транслокациях – четыре разрыва в четырех хромосомах. Для итоговой количественной оценки описываемого обмена участками между тремя хромосомами, по-видимому, следует считать, что, как это и не парадоксально, произошло 1.5 транслокации, что и отразилось на данных, представленных в табл. 1. С позиций действующего определения сложных (комплексных) перестроек хромосом, заключающегося в превышении хотя бы на единицу числа разрывов над числом вовлеченных в процесс хромосом [1], данный феномен не относится к указанному типу aberrаций, хотя стандартные инсерция или инверсия формально уже являются сложными перестройками. Вероятно, надо более подробно рассмотреть вопрос о значении дефиниций “простые” и “сложные” aberrаций.

Основную массу обнаруженных aberrаций хромосом составили реципрокные транслокации, количество которых варьировало от 90.4 до 98.4% от общего числа всех зарегистрированных FISH-окрашенных перестроек. Доля нестабильных aberrаций колебалась от 0 до 7.6%. Частота транслокаций на геном при анализе всех клеток была значимо в 42–67 раз выше ( $p < 0.01$ ), чем для соответствующего возрастного контроля, приведенного в работе [16].

В результате осуществления цитогенетического анализа с помощью трехцветного FISH-метода были выделены, насколько это возможно при данной окраске хромосом, два клона лимфоцитарных клеток с определенными транслокациями, которые были обозначены как  $t(4; 8)$  и  $t(1; 3)$ . Первая транслокация при использовании одноцветных и трехцветных ДНК-зондов для 1, 4 и 12 пар хромосом выглядит как транслокация (4; ?), а при использовании трехцветных ДНК-зондов для 2, 3 и 8 пар хромосом выглядит как транслока-

**Таблица 1.** Результаты цитогенетического трехцветного FISH-анализа культур лимфоцитов периферической крови пациента Г.О.И., пострадавшего при аварии на Чернобыльской АЭС, при использовании ДНК-зондов для 1, 4 и 12 или 2, 3 и 8 пар хромосом  
**Table 1.** The results of a cytogenetic three-color Fish-analysis of peripheral blood lymphocyte cultures of patient G.O.I., affected by the accident at the Chernobyl NPP, when using DNA probes for 1, 4 and 12 or 2, 3 and 8 pairs of chromosomes

Дата взятия материала	День после облучения	Число всех клеток	Число стабильных клеток	Число транслокаций	Частота транслокаций на 100 клеток		Частота инверсий на 100 клеток	Частота делеций на 100 клеток	Частота центрических колец на 100 клеток	Частота ацентриков на 100 клеток	Частота транслокаций на 100 клеток на весь геном	
					все клетки	стабильные клетки					все клетки	стабильные клетки
07.02.11	9053 <sup>1</sup>	260	259	28	10.77	10.42	0	0	0	0.38	33.90	32.82
25.03.14	10195 <sup>2</sup>	1007	1005	124.5	12.36	12.39	0	0.20	0	0	36.20	36.27
20.10.14	10404 <sup>2</sup>	1116	1094	143	12.81	12.80	0.09	0.18	0.09	0.36	37.52	37.47
21.04.15	10587 <sup>2</sup>	919	913	106	11.53	11.50	0.22	0.22	0	0.22	33.77	33.67
22.03.16	10923 <sup>2</sup>	986	978	162.5	16.48	16.21	0.58	0	0	0.39	48.25	47.45
06.12.16	11182 <sup>2</sup>	848	833	142.5	16.80	16.63	0.24	0.12	0	1.30	49.20	48.68
06.12.16	11182 <sup>3</sup>	1100	1095	163	14.82	14.79	0.18	0	0	0.18	42.44	42.37
18.04.17	11315 <sup>2</sup>	917	906	137	14.94	14.46	0.11	0.22	0	0.11	43.74	42.34
18.04.17	11315 <sup>3</sup>	838	834	115	13.72	13.79	0.36	0	0	0.12	39.30	39.49
29.11.17	11540 <sup>2</sup>	1727	1714	200	11.58	11.67	0.12	0.23	0	0.52	33.91	34.16
10.04.18	11672 <sup>2</sup>	882	873	130	14.74	14.78	0.11	0.11	0.11	0.57	43.16	43.26
10.04.18	11672 <sup>3</sup>	839	828	104.5	12.46	12.26	0.12	0	0	0.24	35.67	34.94
19.02.19	11987 <sup>2</sup>	999	987	121	12.11	11.85	0.30	0.10	0	0.20	35.46	34.71
19.02.19	11987 <sup>3</sup>	1102	1087	155.5	14.11	14.03	0.09	0.09	0	0.45	40.41	40.18
08.09.20	12554 <sup>2</sup>	923	915	139	15.06	15.08	0.22	0.11	0	0	44.09	44.16
08.09.20	12554 <sup>3</sup>	687	682	102.5	14.92	15.03	0.58	0	0	0	42.73	43.05

Примечание. <sup>1</sup> Одноцветные ДНК-зонды для 1, 4 и 12 пар хромосом.

<sup>2</sup> Трехцветные ДНК-зонды для 1, 4 и 12 пар хромосом.

<sup>3</sup> Трехцветные ДНК-зонды для 2, 3 и 8 пар хромосом.

**Таблица 2.** Клоны клеток по результатам цитогенетического трехцветного FISH-анализа культур лимфоцитов периферической крови пациента Г.О.И., пострадавшего после аварии на Чернобыльской АЭС, при использовании ДНК-зондов для 1, 4 и 12 и для 2, 3 и 8 пар хромосом

**Table 2.** Cell clones according to the results of cytogenetic three-color Fish-analysis of peripheral blood lymphocyte cultures of patient G.O.I., affected by the accident at the Chernobyl NPP, when using DNA probes for 1, 4 and 12 and for 2, 3 and 8 pairs of chromosomes

Дата взятия материала	День после облучения	Частота транслокаций на 100 стабильных клеток			Процент клоновых транслокаций от всех транслокаций в стабильных клетках	
		все	транслокация (4; 8)	транслокация (1; 3)	транслокация (4; 8)	транслокация (1; 3)
07.02.11	9198 <sup>1</sup>	10.42	0	0	0	0
25.03.14	10195 <sup>2</sup>	12.39	0	0.40	0	3.21
20.10.14	10404 <sup>2</sup>	12.80	1.37	0.09	10.71	0.71
21.04.15	10587 <sup>2</sup>	11.50	1.64	0.44	14.29	3.81
22.03.16	10923 <sup>2</sup>	16.21	2.76	0.61	17.03	3.79
06.12.16	11182 <sup>2</sup>	16.63	3.84	0	23.10	0
06.12.16	11182 <sup>3</sup>	14.79	3.11	0.46	20.99	3.09
18.04.17	11315 <sup>2</sup>	14.46	1.43	0.22	9.92	1.53
18.04.17	11315 <sup>3</sup>	13.79	0.48	0.36	3.48	2.61
10.04.18	11672 <sup>2</sup>	14.78	1.72	0	11.63	0
10.04.18	11672 <sup>3</sup>	12.26	1.21	0	9.80	0
19.02.19	11987 <sup>2</sup>	11.85	0.61	0	5.13	0
19.02.19	11987 <sup>3</sup>	14.03	1.47	0.09	10.56	0.66
08.09.20	12554 <sup>2</sup>	15.08	2.51	0	16.67	0
08.09.20	12554 <sup>3</sup>	15.03	2.64	0.15	17.56	1.95

Примечания. <sup>1</sup> Одноцветные ДНК-зонды для 1, 4 и 12 пар хромосом.

<sup>2</sup> Трехцветные ДНК-зонды для 1, 4 и 12 пар хромосом.

<sup>3</sup> Трехцветные ДНК-зонды для 2, 3 и 8 пар хромосом.

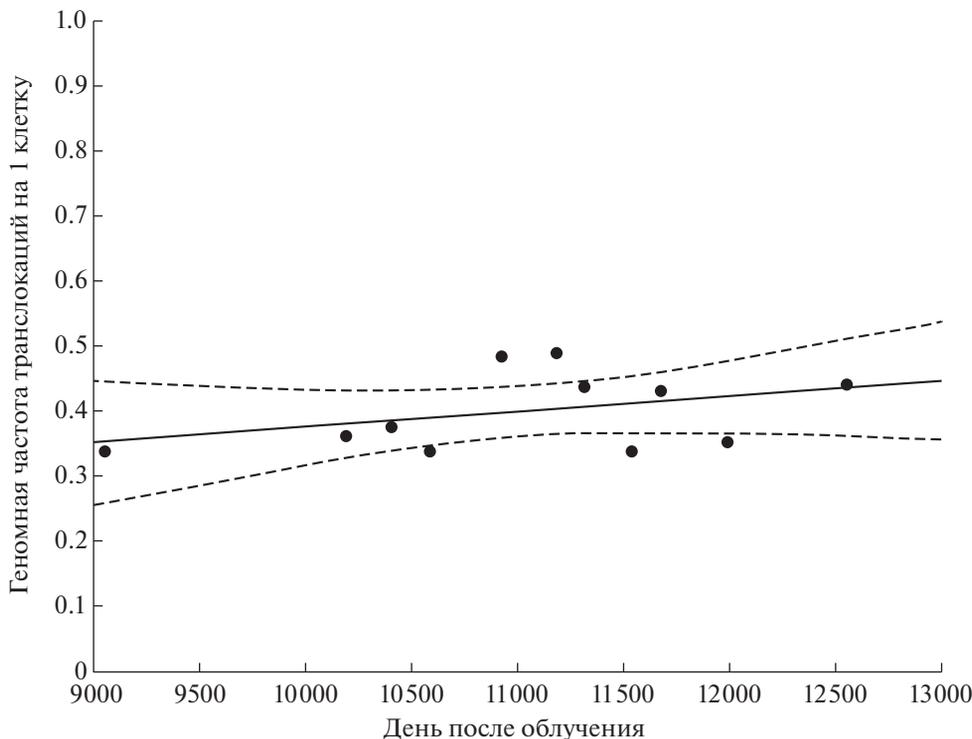
ция (?; 8). Соответственно вторая транслокация при применении одноцветных и трехцветных ДНК-зондов для 1, 4 и 12 пар хромосом выглядит как транслокация (1; ?), а при использовании трехцветных ДНК-зондов для 2, 3 и 8 пар хромосом выглядит как транслокация (?; 3). В табл. 2 приведены частоты этих клоновых транслокаций. В дальнейшем расчеты общих частот транслокаций были выполнены без коррекции и с коррекцией на этот феномен. Коррекция на наличие клонов заключалась в представлении каждого из них в виде одной клетки с соответствующим вычитанием остального клона из общего числа транслокаций и клеток.

В наиболее раннем в данном исследовании сроке взятия крови через 9053 дня (24.8 года) после аварии использовали одноцветные ДНК-пробы для 1, 4 и 12 пар хромосом. При последующих заборах материала (в общей сложности 10 раз) при окрашивании применяли трехцветные ДНК-зонды только для 1, 4 и 12 пар хромосом (5 сроков) или параллельно для {1, 4, 12} и {2, 3, 8} пар хромо-

сом (другие 5 сроков). Сравнение геномных частот транслокаций для разных наборов ДНК-зондов с помощью критерия знаков для связанных выборок продемонстрировало отсутствие различий между ними при анализе как всех, так и только стабильных клеток без и с коррекцией на наличие клонов ( $p = 0.371$ ).

Частоты наблюдаемых транслокаций во всех и стабильных клетках без и с коррекцией на наличие клонов также существенно не отличались друг от друга (критерий знаков для связанных выборок:  $p = 0.453$  и  $0.423$  соответственно).

Изучение зависимости частоты транслокаций от времени после облучения было осуществлено с помощью получения соответствующей линейной регрессии для геномных частот, определенных на основе пересчета наблюдаемых частот этих аберраций при использовании одноцветного и трехцветного ДНК-зондов для 1, 4 и 12 пар хромосом. Коэффициенты корреляции составили 0.388 и 0.417 при уровнях значимости  $p = 0.239$  и  $0.231$  соответственно для данных без и с коррекцией на



**Рис. 1.** Зависимость геномной частоты транслокаций, выявленных с помощью одноцветного и трехцветного FISH-окрашивания для ДНК-зондов к 1, 4 и 12 парам хромосом (сплошная линия – линейная регрессия, пунктирные линии – границы 95%-ного доверительного интервала), от времени после облучения.

**Fig. 1.** The dependence of the genomic frequency of translocations identified using one-color and three-color FISH staining for DNA probes to 1, 4 and 12 pairs of chromosomes (solid line – linear regression, dotted lines – borders of 95% confidence interval), from time after irradiation.

наличие клоновых транслокаций, что демонстрирует отсутствие статистически существенной зависимости уровня транслокаций от срока взятия крови в период от 24.8 до 34.4 года после облучения пациента. Соответствующий график для транслокаций без коррекции представлен на рис. 1.

Для ретроспективной оценки дозы у пациента Г.О.И. были использованы фактические данные, полученные в работе [16]. В ней были построены кривые доза–эффект для радиационно-индуцированных транслокаций в лимфоцитах периферической крови после  $\gamma$ -облучения крови здоровых доноров *in vitro* в дозах от 0.1 до 3 Гр. Для учета перестроек хромосом использовали трехцветное FISH-окрашивание с помощью ДНК-зондов к {1, 4, 12} или {2, 3, 8} парам хромосом отдельно. При этом, как было установлено, вид набора ДНК-зондов не влиял на выявленные частоты транслокаций. Так как в указанной статье [16] были приведены калибровочные кривые для наблюдаемых уровней транслокаций, то применительно к настоящему исследованию после вычитания из зарегистрированных частот контрольных величин был осуществлен пересчет в соответствии с известными формулами [1] для получения радиационно-индуцированных ге-

номных частот. Регрессионный анализ по методу наименьших квадратов позволил установить следующие линейно-квадратичные дозовые зависимости для уровней транслокаций при цитогенетическом исследовании всех (1) и только стабильных (2) клеток соответственно:

$$Y = C + (3.96 \pm 1.31)D + (6.58 \pm 0.54)D^2, \quad (1)$$

$$Y = C + (5.56 \pm 1.23)D + (4.71 \pm 0.50)D^2, \quad (2)$$

где  $Y$  – геномная частота транслокаций на 100 клеток,  $C$  – постоянный коэффициент, равный фоновой средней геномной частоте транслокаций с учетом возраста обследуемого лица,  $D$  – доза, Гр. Коэффициент  $C$  для пациента Г.О.И. брался из статьи [17]: для возрастов 50–59 и 60–69 лет он составлял 0.00732 и 0.01008 соответственно. Действительно, в настоящее время сведения о фоновых уровнях транслокаций при использовании трехцветного FISH-окрашивания очень ограничены и по ним сложно составить суждение о наличии или отсутствии их зависимости от возраста обследуемых людей. Однако, исходя из установленных в разных работах (например, [17]) возрастных зависимостей фоновых частот транслокаций при использовании одноцветного FISH-метода, мож-

но первоначально использовать эти данные и в случае применения трехцветного FISH-метода хромосом, так как в контрольной популяции и в диапазоне малых доз вероятность появления транслокаций между FISH-окрашенными хромосомами должна быть очень низка.

Рассчитанные величины доз при анализе всех и только стабильных клеток без и с проведением коррекции на наличие клонов представлены в табл. 3. Хотя в каждый срок забора материала различия между дозами, оцененными при исследовании всех и только стабильных клеток без коррекции на клоны, не были большими и колебались от 6.9 до 9.8%, составляя в среднем  $2.16 \pm 0.04$  и  $2.34 \pm 0.04$ , однако дозы, определенные по уравнению (2), были регулярно выше доз, полученных с использованием уравнения (1), что привело к существенной статистической разнице между ними. Это показано с помощью критерия знаков для связанных выборок ( $p = 0.0002$ ). Точно так же дело обстояло и после проведения коррекции на наличие клонов ( $p = 0.017$ ). Естественно, дозы после коррекции на наличие клонов были несколько ниже, чем без такой коррекции.

Таблица 4 демонстрирует относительное участие выбранных FISH-окрашенных пар хромосом в различных транслокациях. Более подробно эти данные будут рассмотрены ниже.

## ОБСУЖДЕНИЕ

При описании наблюдаемых перестроек мы исходили из традиционной терминологии, не обращаясь к специально разработанным для FISH-метода системам PAINT или S&S, что в международных методических рекомендациях считается допустимым [1]. При этом обнаруженные транслокации учитывались суммарно и не разделялись на полные/неполные (реципрокные/нереципрокные, двунаправленные/однонаправленные). В данной ситуации на самом деле речь идет о разрешающей способности FISH-метода. В одной из работ полагается, что ее граница составляет 10–50 тыс. пар оснований [18]. Правда, другие авторы [19] обосновывают существенно более высокую величину данного порога разрешения:  $(11.1 \pm 0.8) \times 10^6$  и  $(14.6 \pm 0.6) \times 10^6$  пар оснований для окрашенных и неокрашенных участков хромосом соответственно. В то же время, как отмечено в [20], длина теломер в хромосомах человека составляет 5–15 тыс. пар оснований, а они идентифицируются с помощью FISH-метода, хотя в настоящее время для этого используются не ДНК-зонды, а более эффективные PNA-пробы (PNA, Peptide nucleic acid – пептидо-нуклеиновые кислоты, созданные искусственно) [21]. С помощью мечения теломер хромосом облученных лимфоцитов было продемонстрировано, что многие, якобы реципрокные транслокации

на молекулярном уровне оказываются реципрокными, и частота неполных обменов является очень низкой [22]. По данным работ [23–25], доля неполных транслокаций составляет примерно 3–5%. Таким образом, на самом деле видимая “односторонность” транслокации не обеспечивает надежную оценку неполноты или реципрокности обмена [1]. Также отметим, что, по-видимому, без теломерных проб различные специалисты-цитогенетики могут по-разному оценивать полноту транслокаций.

Для ретроспективной оценки дозы по частотам реципрокных транслокаций, включая использование FISH-метода, изначально исходили из мнения об их постоянстве с течением времени после облучения. Однако результаты цитогенетических исследований через 8 и 10 лет после аварий в г. Гойяния (Бразилия, 1987 г.) [26] и на Чернобыльской АЭС (1986 г.) [27] показали, что в общем случае это не так. Действительно, в указанных исследованиях было продемонстрировано, что при первоначально оцененных дозах соответственно больше 1 и 2 Гр частоты всех зарегистрированных FISH-транслокаций оказывались меньше исходно выявленных частот дицентриков, хотя, предполагая равновероятную индукцию дицентриков и реципрокных транслокаций, частота последних в отдаленные сроки должна была быть равной начальной частоте дицентриков. По-видимому, такой эффект был обусловлен элиминацией как стабильных, так и нестабильных аберраций при их совместном нахождении в одних и тех же клетках.

Ранее также было проведено изучение динамики (до 25 лет после облучения) уровней FISH-зарегистрированных транслокаций у лиц, пострадавших при аварии на Чернобыльской АЭС и сгруппированных по степени тяжести развившейся острой лучевой болезни (ОЛБ), которая зависела от величины поглощенной дозы [28]. Во всех группах, включая 1-ю степень тяжести ОЛБ, уровни транслокаций существенно превышали спонтанный уровень и в общем временном промежутке не имели явной тенденции к снижению своей частоты, за исключением случаев с ОЛБ 1-й степени. Время снижения количества транслокаций до некоторого постоянного уровня было оценено величиной 5–8 лет интенсивной элиминации нестабильных аберрантных клеток, включавших в определенной своей части и транслокации. В последующие сроки аберрантные клетки содержали главным образом аберрации стабильного типа.

В 1994 г. в Эстонии произошел радиационный инцидент с похищением из хранилища радиоактивных отходов источника  $\gamma$ -излучения с последующим его нахождением в частном доме [29]. Для дальнейших цитогенетических исследований

**Таблица 3.** Рассчитанные величины доз при FISH-анализе всех и только стабильных клеток в культурах лимфоцитов периферической крови пациента Г.О.И. в разные сроки после облучения без и с коррекцией на наличие клонов

**Table 3.** The calculated values of doses with Fish-analysis of all and only stable cells in the peripheral blood lymphocyte cultures of patient G.O.I. in different times after irradiation without and with correction for clones

День после облучения	Вариант FISH-окрашивания	Доза (Гр), анализ всех клеток		Доза (Гр), анализ стабильных клеток	
		коррекция на клоны		коррекция на клоны	
		нет	есть	нет	есть
9053	Одноцветный, ДНК-зонды к 1, 4 и 12 парам хромосом	1.98	—	2.16	—
10195	Трехцветный, ДНК-зонды к 1, 4 и 12 парам хромосом	2.06	2.02	2.24	2.09
10404	Трехцветный, ДНК-зонды к 1, 4 и 12 парам хромосом	2.10	1.97	2.29	2.19
10587	Трехцветный, ДНК-зонды к 1, 4 и 12 парам хромосом	1.98	1.79	2.14	2.13
10923	Трехцветный, ДНК-зонды к 1, 4 и 12 парам хромосом	2.42	2.17	2.63	1.92
11182	Трехцветный, ДНК-зонды к 1, 4 и 12 парам хромосом	2.44	2.16	2.67	2.34
11182	Трехцветный, ДНК-зонды к 2, 3 и 8 парам хромосом	2.25	1.97	2.46	2.33
11315	Трехцветный, ДНК-зонды к 1, 4 и 12 парам хромосом	2.29	2.19	2.48	2.13
11315	Трехцветный, ДНК-зонды к 2, 3 и 8 парам хромосом	2.15	2.09	2.36	2.33
11540	Трехцветный, ДНК-зонды к 1, 4 и 12 парам хромосом	1.98	—	2.16	—
11672	Трехцветный, ДНК-зонды к 1, 4 и 12 парам хромосом	2.27	2.13	2.49	2.33
11672	Трехцветный, ДНК-зонды к 2, 3 и 8 парам хромосом	2.04	1.93	2.19	2.07
11987	Трехцветный, ДНК-зонды к 1, 4 и 12 парам хромосом	2.03	1.97	2.18	2.11
11987	Трехцветный, ДНК-зонды к 2, 3 и 8 парам хромосом	2.18	2.06	2.38	2.23
12554	Трехцветный, ДНК-зонды к 1, 4 и 12 парам хромосом	2.30	2.09	2.52	2.28
12554	Трехцветный, ДНК-зонды к 2, 3 и 8 парам хромосом	2.26	2.03	2.49	2.22
Среднее $\pm$ SE		2.16 $\pm$ 0.04	2.04 $\pm$ 0.03	2.34 $\pm$ 0.04	2.19 $\pm$ 0.03

у трех человек из общей группы пострадавших важно то, что имелись исходные результаты FISH-анализов [30, 31]. Оцененные средние дозы на все тело у двух пациентов составили примерно 1 Гр, а у третьего — 2.7 Гр, причем у всех имелись ожоги на руках и были обнаружены цитогенетические признаки парциального радиационного воздействия. В первые четыре года было показано снижение частот транслокаций до 70% от перво-

начального уровня, по мнению авторов, более медленное для полных, чем для всех транслокаций, хотя отмечается, что это различие не было статистически существенным. Продолжение исследований до семи лет после инцидента показало стабилизацию количества транслокаций, делая очевидным достижения минимального уровня в течение первых двух лет. При этом через 5, 6 и 7 лет наблюдалось очень мало дицентриков,

**Таблица 4.** Участие разных FISH-окрашенных хромосом в радиационно-индуцированных двуцветных транслокациях с контрокрашенными хромосомами у пациента Г.О.И. суммарно по всем срокам забора материала  
**Table 4.** Participation of different Fish-colored chromosomes in radiation-induced translocations with counterstained chromosomes of the patient G.O.I. total for all terms of sampling

ДНК-зонды и коррекция на наличие клонов	Число (доля) транслокаций следующих пар FISH-окрашенных хромосом с контрокрашенными хромосомами				Число транслокаций между FISH-окрашенными хромосомами
	1	4	12	сумма	
ДНК-зонды к 1, 4 и 12 хромосомам					
Нет	610 (45.4%)	497 (37.0%)	236 (17.6%)	1343 (100%)	85.5
Есть*	511 (51.7%)	279 (28.42%)	198 (20.0%)	988 (100%)	
ДНК-зонды к 2, 3 и 8 хромосомам					
Нет	204 (34.0%)	186 (30.9%)	211 (35.1%)	601 (100%)	38.5
Есть	204 (39.5%)	179 (34.6%)	134 (25.9%)	517 (100%)	

Примечание. \* Культура лимфоцитов от 29.11.17 не бралась в расчет, так как она не была проанализирована на наличие клоновых транслокаций.

ацентриков и сложных обменов. В конце концов был сделан вывод, что содержание транслокаций в стабильных клетках в течение первых двух лет равно этому показателю в более поздние времена. Таким образом, первоначальное снижение выхода транслокаций было вызвано в основном, если не полностью, путем элиминации нестабильных клеток, и для ретроспективной оценки дозы цитогенетический анализ необходимо проводить в стабильных клетках [31, 32]. Однако эти данные в том числе означают, что в нестабильных клетках в ближайшие сроки после облучения содержится больше реципрокных транслокаций, чем в стабильных, что довольно удивительно. Отметим, что в нашем исследовании, посвященном построению *in vitro* кривых доза—эффект для транслокаций, выявляемых с помощью трехцветного FISH-метода, также наблюдалась значимо или в виде тенденции более высокая частота транслокаций во всех клетках по сравнению с только стабильными клетками при наибольших использованных дозах (2 и 3 Гр) [17].

В работе Y. Chen et al. (2009) были представлены результаты продолжительного цитогенетического обследования пяти выживших пострадавших (двое погибли) после серьезной радиационной аварии 25 июня 1990 г. в Китае (г. Шанхай) [4]. В ходе этого наблюдения были использованы три различных цитогенетических метода: 1) классический, 2) G-бэндинг и 3) FISH-окрашивание 1 пары хромосом. Первоначальная оценка дозы варьировала от 1.9 до 5.1 Гр. К сожалению (по-видимому, из-за ограниченной возможности забора материала), сроки взятия крови после аварии для разных методик были в целом не одинаковы, составляя для 1) 24 ч; 3,5; 5; 6; 9; 12; 14 и 17 лет; для 2) 5; 12; 14; 17 лет и для 3) 8; 9 и 12 лет соответ-

ственно. К 12-му году после облучения количество дицентриков и колец уменьшилось больше чем на 90%. Частота же стабильных аберраций была существенно выше, чем в контроле, и зависела от дозы. При использовании G-бэндинга уровень транслокаций был несколько больше через 5 лет, чем в последующие сроки, когда он мало изменялся. Количество FISH-регистрируемых транслокаций у четырех пациентов с течением времени несколько снижалось в разной степени, оставаясь на примерно одном уровне у пятого пострадавшего. В целом у авторов создалось впечатление, что, чем большая доза была получена, то с тем меньшей скоростью частота транслокаций снижалась со временем, что находится в противоречии с данными работ [26, 27, 31].

Как указывалось выше, этап цитогенетических исследований, представленный в настоящей статье, начался примерно через четверть века после чернобыльской аварии и продолжался около 10 лет. За этот период, как показал регрессионный анализ, частота транслокаций существенно не изменилась и колебалась в границах от 33.8 до 49.2 на 100 клеток (на геном) при использовании одноцветных и трехцветных ДНК-зондов к 1, 4 и 12 парам хромосом. Ранее пациент Г.О.И. попал в группу лиц, которые были обследованы в одной из германских клиник примерно через 5.5 года после радиационного воздействия [33]. В программу обследования входило и проведение цитогенетического анализа культур лимфоцитов периферической крови с помощью одноцветного FISH-окрашивания 1, 4 и 12 пар хромосом. Геномная частота всех транслокаций составила у него 26.3 на 100 клеток. Критерий для отбрасывания крайних вариант не смог продемонстрировать ответственность отличия этой величины от совокуп-

ности данных, полученных в настоящей работе:  $\tau = 0.328$  при  $\tau_{0.05} = 0.428$  [34]. С другой стороны, при построении линейной регрессии с учетом этой ранее полученной варианты коэффициент корреляции составил 0.645 при уровне значимости  $p = 0.0235$ . Можно ли предположить на этой основе, что все-таки имело место некоторое повышение уровня всех транслокаций через 24.8–34.4 года по сравнению с их частотой через 5.5 года после облучения? Вопрос остается открытым, так как имеется вероятность наличия межлабораторных различий при цитогенетической регистрации транслокаций, что может быть допущено из сведений работы [29].

В целом, исходя из данных литературы и настоящего исследования, ситуация выглядит таким образом, что в первые годы после облучения (2–8 лет) в процессе элиминации огромного большинства нестабильных клеток частота транслокаций снижается до какого-то зависящего от дозы уровня, который затем почти не изменяется. При этом после облучения в дозах 1 Гр и ниже уровень транслокаций практически не изменяется [35].

Необходимо еще раз подчеркнуть, что в нашем исследовании количества транслокаций во всех и стабильных клетках значимо не отличались друг от друга, а различия в дозах были обусловлены только ходом полученных ранее кривых доза–эффект, в которых имелись расхождения в частотах транслокаций только при дозах 2 и 3 Гр. При этом различия оценок доз у больного Г.О.И. в численном отношении были минимальны (до 8%). Поэтому, с нашей точки зрения, в отдаленные сроки после облучения, собственно говоря, не очень важно анализируются все клетки или только стабильные, особенно, если полученные дозы были меньше 2 Гр. Да и самих нестабильных аберраций, а соответственно, и нестабильных клеток в определенных сроки становится крайне мало.

На постоянство величины регистрируемых частот радиационно-индуцированных транслокаций могут влиять такие факторы как наличие длительно живущих фракций лимфоцитов или клоновых транслокаций в линиях клеток, берущих начало от соответствующих стволовых клеток [35]. Как считает J.D. Tucker (2008), может быть два подхода к вопросу о клетках с клоновыми аберрациями: их учет с признанием, что имеет место единичное событие, т.е. одна клетка, или игнорирование этого обстоятельства, признавая каждую транслокацию как независимое событие [36]. В подтверждение последней точки зрения приводится то рассуждение, что, собственно говоря, все лимфоциты, в том числе и нормальные, имеют клоновую природу. Задавшись вопросом, какую же стратегию выбрать, автор предлагает при индивидуальных оценках учи-

тывать наличие аномальных клонов, а при популяционном оценивании доз не делать этого. Учитывая данные, полученные в настоящей статье, по-видимому, будет достаточно допустимо не приводить коррекцию на наличие клонов даже при ретроспективных оценках доз у отдельных пострадавших. Разумеется, это относится только к случаям без образования многоклеточных злокачественных клонов. В целом ретроспективные оценки дозы у пациента Г.О.И. были в среднем примерно на 30% ниже, чем первоначальная оценка по частоте дицентриков.

Как уже указывалось, в табл. 4 показаны количественные данные об участии различных FISH-окрашенных хромосом в их транслокациях с контрокрашенными хромосомами, а также общее число транслокаций между FISH-окрашенными хромосомами. Без и с коррекцией на наличие клонов для набора ДНК-зондов к 1, 4 и 12 парам хромосом по частоте образования транслокаций с контрокрашенными хромосомами FISH-окрашенные хромосомы располагались в следующем порядке:  $1 > 4 > 12$  ( $p < 0.0001$ ). Для набора ДНК-зондов к 2, 3 и 8 парам хромосом без указанной коррекции существенных различий между этими хромосомами не наблюдалось ( $p = 0.125–0.671$ ), несмотря на установленную разницу относительного содержания ДНК в них. После коррекции по степени участия в этих транслокациях наблюдалось следующее расположение рассматриваемых хромосом:  $2 > 8$  ( $p < 0.0001$ ) и  $3 > 8$  ( $p = 0.023$ ). Различия между парами хромосом 2 и 3 было незначимым ( $p = 0.108$ ). Интересно, что последний факт наблюдался и в статье [16].

Также по методу, описанному в работе [34], было осуществлено сравнение между эмпирическими и расчетными частотами участия отдельных FISH-окрашенных пар хромосом в транслокациях, исходя из табличных величин относительного содержания в них ДНК [1]. Были получены противоречивые результаты. Так, при использовании набора ДНК-зондов к 1, 4 и 12 парам хромосом без коррекции на наличие клонов доля транслокаций с участием хромосомы 1 соответствовала ее относительной длине, тогда как для хромосом 4 и 12 этот показатель был значимо (при  $p < 0.05$ ) соответственно выше и ниже расчетных значений. После коррекции на наличие клонов для хромосомы 1 участие в транслокациях было выше ожидаемого, а для хромосом 4 и 12 – ниже ожидаемого. При применении набора ДНК-зондов к 2, 3 и 8 парам хромосом без коррекции на наличие клонов транслокаций с 2 и 8 хромосомами было соответственно меньше и больше предполагаемой частоты, а для хромосомы 3 их количество не отличалось от теоретических ожиданий (при  $p < 0.05$ ). После проведения коррекции для всех хромосом данного набора различия по ожидаемому количеству транслока-

ций с контрокрашенными хромосомами отсутствовали. По-видимому, такое расхождение результатов, полученных с использованием разных наборов ДНК-зондов, обусловлено наличием нераспознанного(ых) клон(ов) с участием 1 хромосомы. Возрастание доли транслокаций с участием этой хромосомы автоматически приводит к снижению вклада других хромосом из используемого набора ДНК-зондов. В основе данной точки зрения лежит представление о прямо пропорциональной зависимости величины вероятности индукции двойных разрывов ДНК ее относительному содержанию в отдельных парах хромосом [1], хотя ряд авторов не согласны с этим положением [37–39]. В статье [16] после  $\gamma$ -облучения крови здоровых доноров *in vitro* и трехцветного FISH-окрашивания с помощью тех же, как и в данной работе, наборов ДНК-зондов существенные различия между эмпирическими и расчетными вкладами отдельных пар хромосом в образование радиационно-индуцированных транслокаций не наблюдались. Таким образом, если производится оценка сравнительного участия разных хромосом в реципрокных транслокациях, то, в отличие от ретроспективной оценки дозы, осуществление коррекции на наличие клональных перестроек становится обязательным. Отклонения же частот участия в транслокациях отдельных хромосом от ожидаемых величин, исходя из содержания в них ДНК, по-видимому, может свидетельствовать о нераспознанных клонках клеток.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, в настоящей статье с помощью трехцветного FISH-окрашивания было проведено цитогенетическое исследование культур лимфоцитов периферической крови пациента, подвергшегося радиационному воздействию в дозе 3.2 Гр (оценка по частоте дицентриков) при аварии на Чернобыльской АЭС. Общая длительность данного наблюдения составила приблизительно 10 лет, начиная с около 25 лет после облучения. В различные сроки были применены разные наборы ДНК-зондов. Геномные частоты транслокаций не зависели от выбранного набора и были примерно одинаковы на протяжении всего периода исследования. Для ретроспективного определения дозы использовали калибровочные кривые для частот радиационно-индуцированных транслокаций, полученные ранее в экспериментах с облучением крови здоровых доноров *in vitro*. В целом средняя величина этой оценки составила приблизительно 2.2 Гр, демонстрируя частичное снижение исходной частоты транслокаций, по-видимому, вследствие элиминации нестабильных клеток, в которых стабильные и нестабильные aberrации хромосом находились вместе.

Хотя ретроспективная оценка дозы была более высокая при анализе только стабильных клеток, однако в чисто численном плане разница с результатами, полученными при анализе всех клеток, была очень небольшой. Поэтому, по-видимому, с практической точки зрения проблема, какие клетки учитывать, является не очень важной. Гораздо более критическим является знание того, какой должна быть величина необходимой коррекции при ретроспективных оценках исходно различных доз, больших 1 Гр, если такая необходимость возникнет.

Относительно наличия клонов клеток с транслокациями хромосом складывается впечатление, что при клинической относительной норме значение этого фактора для ретроспективной оценки дозы также сильно преувеличено. Да, их учет приводит к уменьшению величины оценки дозы, но при дозах больше 1 Гр она уже снижена, а при меньших дозах вероятность появления клонки, скорее всего, невелика. Если же клон приобретет черты злокачественности, то при ретроспективной оценке дозы данное обстоятельство придется учитывать. Правда, при этом возникнут совершенно другие медицинские проблемы, на которые будет обращено основное внимание.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cytogenetic Dosimetry: Applications in Preparedness for and Response to Radiation Emergencies. Vienna: IAEA, 2011. 240 p.
2. Balajee A.S. Applications of fluorescence in situ hybridization in radiation cytogenetic biodosimetry and population monitoring // *OBM Genetics*. 2018. V. 2. № 4. <https://doi.org/10.21926/obm.genet.1804042>
3. Beaton-Green L.A., Barr T., Ainsbury E.A., Wilkins R.C. Retrospective biodosimetry of an occupational overexposure-case study // *Radiat. Prot. Dosim.* 2016. V. 172. № 1–3. P. 254–259. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncw179>
4. Chen Y., Jin C.-Z., Zhang X.-Q., et al. Seventeen-year follow-up study on chromosomal aberrations in five victims accidentally exposed to several Gy of  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ -rays // *Radiat. Environ. Biophys.* 2009. V. 48. № 1. P. 57–65. <https://doi.org/10.1007/s00411-008-0203-y>
5. Cho M.S., Lee J.K., Bae K.S. et al. Retrospective biodosimetry using translocation frequency in a stable cell of occupationally exposed to ionizing radiation // *J. Radiat. Res.* 2015. V. 56. № 4. P. 709–716. <https://doi.org/10.1093/jrr/rrv028>
6. Ainsbury E.A., Bakhanova E., Barquinero J.F. et al. Review of retrospective dosimetry techniques for external ionising radiation exposures // *Radiat. Prot. Dosim.* 2011. V. 147. № 4. P. 573–592. <https://doi.org/10.1093/rpd/ncq499>
7. Lloyd D.C., Moquet J.E., Oram S. et al. Accidental intake of tritiated water: A cytogenetic follow-up case on translocation stability and dose reconstruction // *Int. J.*

- Radiat. Biol. 1998. V. 73. № 5. P. 543–547.  
<https://doi.org/10.1080/095530098142095>
8. Grégoire E., Roy L., Buard V. et al. Twenty years of FISH-based translocation analysis for retrospective ionizing radiation biodosimetry // Int. J. Radiat. Biol. 2018. V. 94. № 3. P. 248–258.  
<https://doi.org/10.1080/09553002.2018.1427903>
  9. Lucas J.N., Deng W. Views on issues in radiation biodosimetry based on chromosome translocations measured by FISH // Radiat. Prot. Dosim. 2000. V. 88. № 1. P. 77–86.  
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.rpd.a033024>
  10. Liu Q.-J., Lu X., Zhao X.-T. et al. Assessment of retrospective dose estimation, with fluorescence in situ hybridization (FISH), of six victims previously exposed to accidental ionizing radiation // Mutat. Res. / Genet. Toxicol. Environ. Mutagenesis. 2014. V. 759. P. 1–8.  
<https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2013.07.016>
  11. Sorokine-Durm I., Durand V., Delbos M. et al. A french view on FISH painting as a biodosimeter // Radiat. Prot. Dosim. 2000. V. 88. № 1. P. 35–44.  
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.rpd.a033017>
  12. Popp S., Cremer T. Development of a biological dosimeter for translocation scoring based on two-color fluorescence in situ hybridization of chromosome subsets // J. Radiat. Res. 1992. V. 33. (Suppl\_1). P. 61–70.  
[https://doi.org/10.1269/jrr.33.Suppl\\_1.61](https://doi.org/10.1269/jrr.33.Suppl_1.61)
  13. Tanaka K., Popp S., Fischer C. et al. Chromosome aberration analysis in atomic bomb survivors and Thorotrast patients using two- and three-colour chromosome painting of chromosomal subsets // Int. J. Radiat. Biol. 1996. V. 70. № 1. P. 95–108.
  14. Sommer S., Buraczewska I., Wójciszewska M. et al. The radiation sensitivity of human chromosomes 2, 8 and 14 in peripheral blood lymphocytes of seven donors // Int. J. Radiat. Biol. 2005. V. 81. № 10. P. 741–749.  
<https://doi.org/10.1080/09553000500499381>
  15. Distel L., Keller U., Neubauer S. Three-color FISH for the detection of individual radiosensitivity // Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) – Application Guide / Ed. T. Liehr. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2009. P. 231–241.
  16. Whitehouse C.A., Edwards A.A., Tawn E.J. et al. Translocation yields in peripheral blood lymphocytes from control populations // Int. J. Radiat. Biol. 2005. V. 81. № 2. P. 139–145.  
<https://doi.org/10.1080/09553000500103082>
  17. Нугис В.Ю., Снигирева Г.П., Ломоносова Е.Е. и др. Трехцветный FISH-метод: кривые доза–эффект для транслокаций в культурах лимфоцитов периферической крови после гамма-облучения *in vitro* // Мед. радиология и радиац. безопасность. 2020. Т. 65. № 5. С. 12–20. [Nugis V.Yu., Snigiryova G.P., Lomonosova E.E. et al. Three-color FISH method: dose–effect curves for translocations in peripheral blood lymphocyte cultures after gamma-irradiation *in vitro* // Medical Radiology and Radiation Safety. 2020. V. 65. № 5. P. 12–20. (In Russ.)].  
<https://doi.org/10.12737/1024-6177-2020-65-5-12-20>
  18. Serakinci N., Kolvraa S. Molecular cytogenetic applications in diagnostics and research: an overview // Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) – Application Guide / Ed. T. Liehr. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2009. P. 3–22.
  19. Kodama Y., Nakano M., Ohtaki K. et al. Estimation of minimal size of translocated chromosome segments detectable by fluorescence in situ hybridization // Int. J. Radiat. Biol. 1997. V. 71. № 1. P. 35–39.  
<https://doi.org/10.1080/095530097144391>
  20. Wahab M.A., Nickless E.M., Najar-M’Kacher R. et al. Elevated chromosome translocation frequencies in New Zealand nuclear test veterans // Cytogenet. Genome Res. 2008. V. 121. № 2. P. 79–87.  
<https://doi.org/10.1159/000125832>
  21. Дмитриев П.В., Васецкий Е.С. Анализ теломерной ДНК: современные подходы и методы // Онтогенез. 2009. Т. 40. № 3. С. 163–184. [Dmitriev P.V., Vasetzky E.S. Analysis of telomeric DNA: Current approaches and methods // Ontogenez. 2009. V. 40. № 3. P. 163–184. (In Russ.)]
  22. Boei J.J.W.A., Natarajan A.T. Combined use of a chromosome painting and telomere detection to analyse radiation-induced chromosomal aberrations in mouse splenocytes // Int. J. Radiat. Biol. 1998. V. 73. № 2. P. 125–133.  
<https://doi.org/10.1080/095530098142491>
  23. Wu H., George K., Yang T.C. Estimate of true incomplete exchanges using fluorescence *in situ* hybridization with telomere probes // Int. J. Radiat. Biol. 1998. V. 73. № 5. P. 521–527.  
<https://doi.org/10.1080/095530098142068>
  24. Fomina J., Darroudi F., Boei J.J.W.A., Natarajan A.T. Discrimination between complete and incomplete chromosome exchanges in X-irradiated human lymphocytes using FISH with pan-centromeric and chromosome specific DNA probes in combination with telomeric PNA probe // Int. J. Radiat. Biol. 2000. V. 76. № 6. P. 807–813.  
<https://doi.org/10.1080/09553000050028968>
  25. Fomina J., Darroudi F., Natarajan A.T. Accurate detection of true incomplete exchanges in human lymphocytes exposed to neutron radiation using chromosome painting in combination with a telomeric PNA probe // Int. J. Radiat. Biol. 2001. V. 77. № 12. P. 1175–1183.  
<https://doi.org/10.1080/09553000110083951>
  26. Natarajan A.T., Santos S.J., Darroudi F. et al. <sup>137</sup>Cesium-induced chromosome aberrations analysed by fluorescence *in situ* hybridization: Eight years follow up of the Goiânia radiation accident victims // Mutat. Res. 1998. V. 400. № 1. P. 299–312.  
[https://doi.org/10.1016/s0027-5107\(98\)00021-9](https://doi.org/10.1016/s0027-5107(98)00021-9)
  27. Sevan’kaev A.V., Khvostunov I.K., Mikhailova G.F. et al. Novel data set for retrospective biodosimetry using both conventional and FISH chromosome analysis after high accidental overexposure // Appl. Radiat. Isotop. 2000. V. 52. № 5. P. 1149–1152.  
[https://doi.org/10.1016/s0969-8043\(00\)00062-2](https://doi.org/10.1016/s0969-8043(00)00062-2)
  28. Нугис В.Ю., Севанькаев А.В., Хвостунов И.К. и др. Результаты 25-летнего цитогенетического обследования лиц, подвергшихся облучению в различных дозах при аварии на Чернобыльской АЭС // Радиационная биология. Радиоэкология. 2011. Т. 51. № 1. С. 81–90. [Nugis V.Yu., Sevan’kaev A.V., Khvostunov I.K. et al. The results of 25 years of cytogenetic investigation of survivors exposed to different doses of irradiation in

- the Chernobyl accident // *Radiation Biology. Radioecology*. 2011. V. 51. № 1. P. 81–90. (In Russ.)]
29. *Lingholm C., Tekkel M., Veidebaum T. et al.* Persistence of translocations after accident exposure to ionizing radiation // *Int. J. Radiat. Biol.* 1998. V. 74. № 5. P. 565–571.  
<https://doi.org/10.1080/095530098141140>
  30. *Lindholm C., Romm H., Stephan G. et al.* Intercomparison of translocation and dicentric frequencies between laboratories in a follow-up of the radiological accident in Estonia // *Int. J. Radiat. Biol.* 2002. V. 78. №10. P. 883–890.  
<https://doi.org/10.1080/09553000210155888>
  31. *Lingholm C., Edwards A.* Long-term persistence of translocations in stable lymphocytes from victims of a radiological accident // *Int. J. Radiat. Biol.* 2004. V. 80. № 8. P. 559–566.  
<https://doi.org/10.1080/09553000412331283498>
  32. *Edwards A.A., Lindholm C., Darroudi F. et al.* Review of translocations detected by FISH for retrospective biological dosimetry application // *Radiat. Prot. Dosim.* 2005. V. 113. № 4. P. 396–402.  
<https://doi.org/10.1093/rpd/nch452>
  33. *Salassidis K., Schmid E., Peter R.U. et al.* Dicentric and translocation analysis for retrospective dose estimation in humans exposed to ionising radiation during the Chernobyl nuclear power plant accident // *Mutat. Res.* 1994. V. 311. № 1. P. 39–48.  
[https://doi.org/10.1016/0027-5107\(94\)90071-X](https://doi.org/10.1016/0027-5107(94)90071-X)
  34. *Урбах В.Ю.* Биометрические методы. М.: Наука, 1964. 415 с. [*Urbah V.Yu.* Biometricheskiye metodi. Moskva: Nauka, 1964. 415 p. (In Russ.)]
  35. *Tucker J.D.* Reflections on the development and application of FISH whole chromosome painting // *Mutat. Res./Reviews in Mutat. Res.* 2015. V. 763. P. 2–14.  
<https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2014.11.006>
  36. *Tucker J.D.* Low-dose ionizing radiation and chromosome translocations: A review of the major considerations for human biological dosimetry // *Mutat. Res./Reviews in Mutat. Res.* 2008. V. 659. № 3. P. 211–220.  
<https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2008.04.001>
  37. *Pouzoulet F., Roch-Lefevre S., Giraudet A.L. et al.* Monitoring translocations by m-FISH and three-color FISH painting techniques: a study of two radiotherapy patients // *J. Radiat. Res.* 2007. V. 48. № 5. P. 425–434.  
<https://doi.org/10.1269/jrr.07013>
  38. *Ramadhani D., Purnami S., Yoshida M.* Comparison of radiosensitivity of human chromosomes 1, 2 and 4 from one healthy donor // *Atom Indonesia*. 2006. V. 42. № 2. P. 71–77.  
<https://doi.org/10.17146/aij.2016.505>
  39. *Sommer S., Buraczewska I., Wojewodzka M. et al.* The radiation sensitivity of human chromosomes 2, 8 and 14 in peripheral blood lymphocytes of seven donors // *Int. J. Radiat. Biol.* 2005. V. 81. № 10. P. 741–749.  
<https://doi.org/10.1080/09553000500499381>

## Analysis Peripheral Blood Lymphocytes Cultures of Patient In long Terms after Emergency Irradiation with the Help of Three-color FISH Method

E. E. Lomonosova<sup>a</sup>, V. Yu. Nugis<sup>a,\*</sup>, G. P. Snigiryova<sup>b</sup>, M. G. Kozlova<sup>a</sup>,  
V. A. Nikitina<sup>a</sup>, and I. A. Galstyan<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia*

<sup>b</sup>*Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia*

<sup>\*</sup>*E-mail: nugisvju@list.ru*

The results of cytogenetic analysis using mainly three-color FISH-staining of chromosome peripheral blood lymphocytes of one patient are presented in this paper. This patient was subjected to irradiation as a result of the accident at the Chernobyl nuclear power plant. The initial dose estimated by the dicentrics frequency was 3.2 Gy. The material was obtained in the total time interval of 9053–12554 days (24.8–34.4 years) after radiation exposure. The sets of DNA probes to {1, 4, 12} and {2, 3, 8} pairs of chromosomes were used, but not always together in all times. Total genomic frequency of complete and incomplete translocations was not statistically significantly changed for the entire period of observation. Retrospective dose estimates were produced according to the previously obtained in vitro dependences of the dose-effect. Dose values were located in the ranges from 1.98 to 2.44 Gy and from 2.14 to 2.67 Gy when analyzing of metaphases of all cells and only stable cells, respectively. The problem of taking into account of the presence of cell clones with chromosomal translocations is discussed.

**Keywords:** peripheral blood lymphocyte culture, acute irradiation, tricolor FISH method, translocations, retrospective assessment of radiation dose

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ РАДИОБИОЛОГИЯ

УДК 576.316.24:577.2:613.648:539.1.047

### ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ТЕЛОМЕРЫ

© 2022 г. В. С. Макеева<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Южно-Уральский институт биофизики, Озёрск, Россия

\*E-mail: clinic@subi.su

Поступила в редакцию 12.07.2021 г.

После доработки 01.11.2021 г.

Принята к публикации 09.11.2021 г.

На сегодняшний день длина теломер является информативным и важным биомаркером общего состояния здоровья человека, старения, влияния факторов окружающей среды, образа жизни и стресса. В последнее время многие исследования демонстрируют взаимосвязь между длиной теломер и радиационно-индуцированными эффектами. Рассмотрению этого вопроса будет посвящен настоящий обзор.

**Ключевые слова:** теломеры, теломераза, ионизирующее излучение, укорочение теломер

**DOI:** 10.31857/S0869803122010076

Термин “теломера” был предложен Германом Мёллером в 1932 г. и происходит от древнегреческих слов “telos – конец” и “meros” – часть.

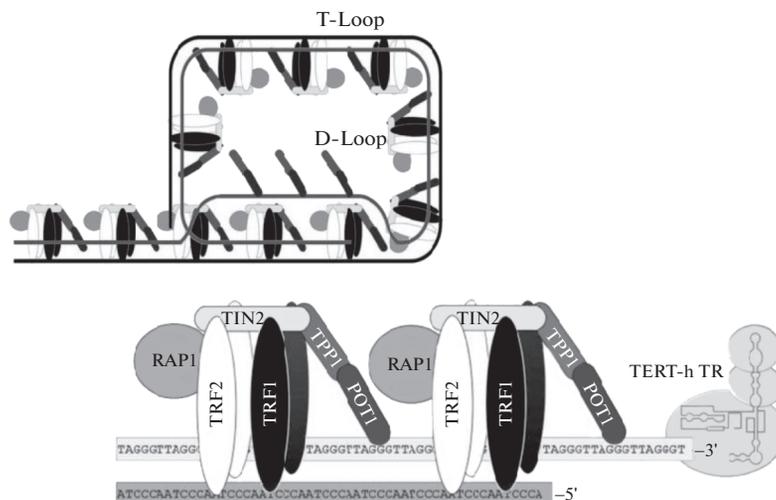
Теломеры – это специализированные нуклеопротеиновые комплексы, локализованные на концах хромосом эукариот, в форме “защитного колпачка”. У человека теломеры состоят из тандемных повторов 5'-TTAGGG-3' ДНК, не несущих генетической информации, и ассоциированных с ними белков [1]. Длина двухцепочечного “защитного колпачка” может составлять 2–20 kb [2].

Каждую тандемную нуклеотидную последовательность сопровождает протеиновый комплекс – *шелтерин (shelterin)*. Вместе они защищают хромосомные концы от распознавания как двухнитевого разрыва цепи (DSB, Double Strand Breaks) системой репарации и предотвращают активацию сверхочных точек повреждения ДНК [3]. Комплекс имеет форму Т-петли и включает шесть белков, ассоциированных с теломерной ДНК: TRF1, TRF2, TIN2, POT1, TPP1, RAP1. Каждый из этих белков выполняет специфичные функции, направленные на поддержание теломер. TRF1 и TRF2 связывают двухнитевые разрывы теломерной ДНК, а POT1 – одонитевые разрывы ДНК. Также POT1 взаимодействует с другими белками комплекса через связывающие белки TIN2 и TPP1. Многочисленные молекулы POT1–TPP1 покрывают длинные участки одноцепочечной ДНК, образуя компактные упорядоченные структуры, которые служат для защиты участков от доступа теломеразы и факторов ответа на повреждение ДНК (DDR – DNA Damage Response). TIN2 стабилизирует TRF1 и TRF2 на

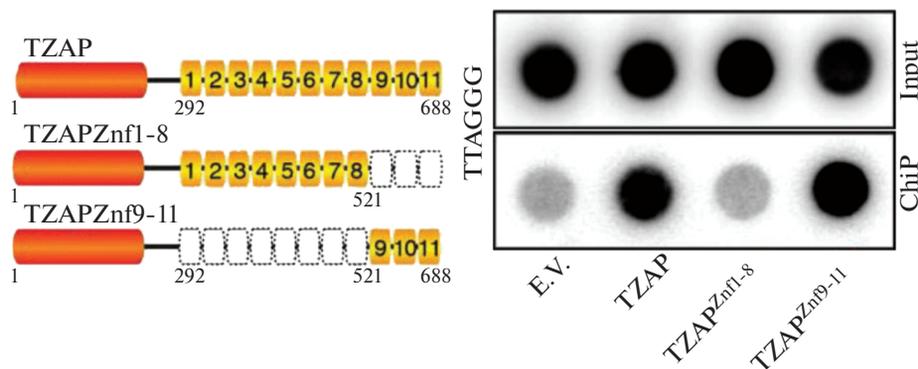
двухцепочечном участке ДНК, а TPP1 и POT1 – на одноцепочечном. RAP1 взаимодействует с TRF2 и подавляет DDR в теломерах (рис. 1) [4–6]. Помимо ДНК теломеры содержат РНК (TERRA, Telomeric Repeat containing RNA), являющуюся естественным лигандом и ингибитором теломеразы [7].

Недавно был обнаружен еще один белок, обладающий сродством к участкам 5'-TTAGGG-3' теломер. Это Kruppel-подобный белок с 11 цинковыми пальцами (ZBTB48). На основании его теломерспецифической локализации ZBTB48 был переименован в TZAP (Telomeric Zinc-finger Associated Protein – теломерный белок с цинковыми пальцами) (рис. 2). Наряду с шелтерином этот белок играет важную роль в гомеостазе теломер. TZAP прикрепляется к 5'-TTAGGG-3'-повторам теломер: связываясь с ДНК, он инициирует укорочение теломер, вырезая шестинуклеотидные повторы [8].

Выяснилось, что количество шелтерина (в том числе и его субъединицы TRF2) в клетке постоянно и не зависит от длины теломер. Поэтому на длинных теломерах могут “обнажаться” повторы -TTAGGG-, свободные от TRF2. С ними связывается TZAP. Причем конкурирует за субстрат он именно с TRF2, а не с TRF1. При повышенной экспрессии гена *TRF2* количество присоединенного к ДНК TZAP сокращается. В клетках с нормальным балансом TRF2/TZAP последний следит за тем, чтобы теломера не стала слишком длинной. Эту функцию TZAP выполняет и в эмбриональных стволовых клетках: при экспериментальной делеции генов *TZAP* теломеры в ство-



**Рис. 1.** Схема строения шелтерина и Т-петли теломер. Копия рисунка из работы [1].  
**Fig. 1.** Schematic structure of shelterin and telomere T-loop. Copied from [1].



**Рис. 2.** Структура и варианты белка TZAP. Для присоединения к теломерной ДНК TZAP требуются три последних цинковых пальца. Копия рисунка из работы [8].  
**Fig. 2.** TZAP protein structure and structural variants. To bind to telomeric DNA sequences, TZAP uses three last zink fingers. Copied from [8].

ловых клетках существенно удлинялись, а после введения экзогенного TZAP возвращались к норме. Известно, что слишком длинные теломеры могут способствовать трансформации клетки в раковую, разрешая ей большее количество делений. То есть TZAP, регулируя максимальную длину теломер, по-видимому, участвует в защите организма от возникновения опухолей [8].

По завершении каждой репликации ДНК теряется небольшое количество нуклеотидов (т.н. “концевая недорепликация” [9]) из-за того, что ДНК-полимеразная система оставляет недореплицированными 3'-концы материнских цепей ДНК, т.е. новые цепи оказываются укороченными с 5'- концев. А так как теломерные повторы не несут генетической информации, то потеря некоторой части нуклеотидов не отражается на функ-

ционировании генома (в среднем теряется 200–300 н.п., а длина двухцепочечного теломерного участка индивидов может варьировать от 2 до 20 т.н.п) [10]; таким образом теломеры выполняют роль своеобразного буфера. Их общая протяженность на обе теломерные области составляет лишь 0.02% от всего генома [11].

После определенного количества клеточных делений теломеры укорачиваются до критических значений и перестают функционировать. В нормальных клетках с неповрежденными функциями белка p53 и сверхкороткими точками клеточного цикла эти сверхкороткие теломеры распознаются как повреждения ДНК, и запускаются пути DDR, который формирует очаги TIFs (Telomere Dysfunction-Induced foci) [11, 12]. Индукция факторов DDR, таких как ATM и γH2AX, обратно

коррелирует с уровнями белков шелтерина и длиной теломер [13]. В нормальных клетках с правильно функционирующими системами репарации может присутствовать небольшое количество теломер (до пяти) с дисфункцией [14]. Но при накоплении TIFs происходит следующее: DDR препятствует дальнейшему делению клетки, что приводит ее к блоку клеточного цикла и “репликативному старению” [15]. Однако клетки, которые утратили белки сверхочных точек (p53 и p16) для запуска DDR, перестают стареть: их клеточное старение откладывается, они продолжают пролиферировать с сопутствующим укорочением теломер, пока не наступит “теломерный кризис”, включающий в себя массивные хромосомные слияния и гибель клетки [16].

Таким образом, прогрессирующее укорочение теломер действует как “молекулярные часы”, которые ограничивают количество клеточных делений, тем самым регулируя продолжительности жизни клетки [9, 17].

Постоянное укорочение теломер в различных типах клеток может быть компенсировано двумя механизмами теломерного удлинения: посредством активации специализированной обратной транскриптазы – теломеразы (характерно для соматических и половых клеток) и через альтернативное удлинение теломер (ALT – Alternative Lengthening of Telomeres) путем гомологичной рекомбинации, независимой от активности теломеразы (характерно для некоторых раковых клеток) [18].

Теломераза – специализированная обратная транскриптаза, состоящая из каталитической субъединицы, обладающей активностью обратной транскриптазы (hTERT – human Telomerase Reverse Transcriptase), которая с помощью РНК-субъединицы (hTR или hTERC – human Telomerase RNA Component) (рис. 3) синтезирует теломерную ДНК *de novo*. Она удлиняет теломеры, присоединяя тандемные последовательности ДНК (-TTAGGG-) к 3'-концу цепи. Белок дискерин (DKC1) включается в состав теломеразного комплекса на стадии его формирования и регулирует активность теломеразы [19].

В частности, теломераза экспрессируется в стволовых и эмбриональных клетках; в тканях, способных к регенерации; в большинстве раковых клеток. Как правило, ее экспрессия инактивирована в дифференцированных клетках, таких как соматические, поэтому теломеры их хромосом укорачиваются после каждого клеточного деления [20].

Степень и сложность биологического повреждения, вызванного прямым воздействием ионизирующего излучения (ИИ), прямо пропорциональны распределению энергии излучения и линейной передаче энергии (ЛПЭ). При прямом воздействии ИИ характер хромосомного повре-

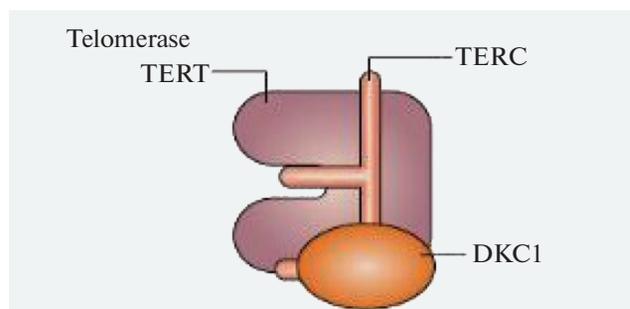
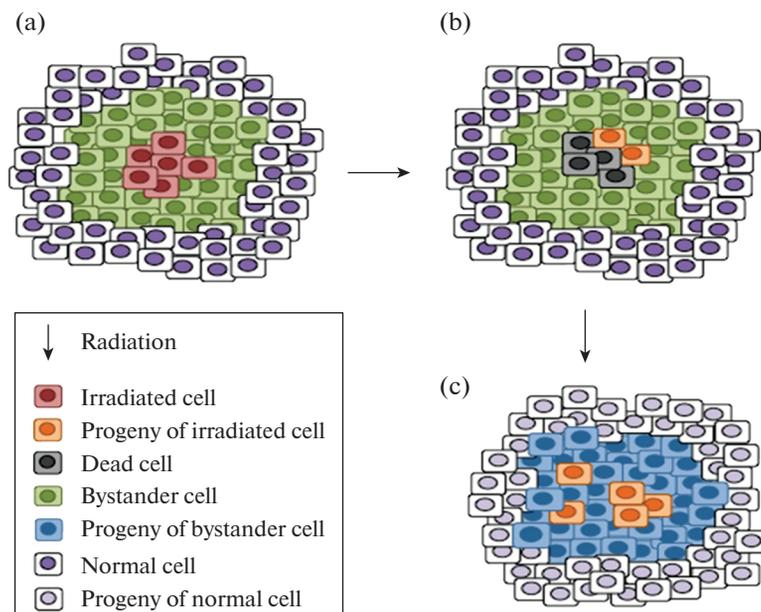


Рис. 3. Схема строения теломеразы. Копия рисунка из работы [20].

Fig. 3. Schematic structure of telomerase. Copied from [20].

ждения зависит от суммарной дозы, мощности излучения и ЛПЭ. ИИ с низкой ЛПЭ (высокоэнергетические рентгеновские кванты и  $\gamma$ -кванты от  $^{137}\text{Cs}$  и  $^{60}\text{Co}$ ) выделяют экспоненциально уменьшающееся количество энергии в зависимости от глубины проникновения в целевой материал (например, клетку, ткань, орган). Дозы излучения с низкой ЛПЭ приводят к равномерному облучению клеток ткани. Когда рентгеновские и  $\gamma$ -кванты поглощаются клетками или тканями, они взаимодействуют с атомами или молекулами, особенно с водой, которая составляет 80% клетки, с образованием свободных радикалов (например, гидроксильных, супероксидных радикалов) и других активных форм кислорода (АФК), которые затем повреждают критические цели в непосредственной близости, такие как ДНК [21]. Напротив, ИИ с высокой ЛПЭ (протоны, нейтроны,  $\alpha$ -частицы и тяжелые заряженные частицы) выделяют энергию, которая концентрируется вдоль радиационного трека; таким образом, локальная доза в центре трека может составлять десятки Гр, но на расстоянии всего лишь нескольких микрон (т.е. в соседней клетке) доза может быть близкой к нулю [22]. Следовательно, когда ИИ с высокой ЛПЭ проходит через живое вещество, оно вызывает прямые кластерные повреждения вдоль радиационного трека к критическим клеточным мишеням, таким как ДНК, что приводит к двухнитевым разрывам ДНК и другим сложным хромосомным повреждениям, степень повреждения которых зависит от конкретных физических характеристик излучения, таких как энергия и масса [21].

Радиационно-индуцированная геномная нестабильность в ее различных проявлениях в настоящее время и в течение многих лет является предметом всемирного интереса (хромосомные aberrации, изменения ploидности, образование микроядер, мутации и амплификации генов, нестабильность микросателлитов и пр.) [23, 24]. Хромосомные повреждения, вызванные прямым



**Рис. 4.** Модель замедленного действия ионизирующего излучения на клеточном уровне и ускоренного старения после облучения на тканевом уровне. Копия рисунка из работы [2].

(a) Клетки, подвергнутые воздействию ионизирующего излучения в высокой дозе (красные). Клетки-свидетели (зеленые), находящиеся вблизи непосредственно облученных клеток, будут подвергаться воздействию сигналов стресса, распространяемых облученными клетками посредством щелевых контактов и/или секрецией растворимых факторов. (b) Большинство непосредственно облученных клеток погибает, но немногие выжившие клетки могут сохранять повреждения, вызванные облучением. (c) Для пополнения пула ткани после гибели клеток и для компенсации медленного деления потомства непосредственно облученных клеток окружающие клетки-свидетели могут делиться интенсивнее, что приводит к более быстрому укорочению теломер и локализованному ускоренному старению в облученной ткани [2].

**Fig. 4.** Model for delayed radiation effects and accelerated aging following irradiation at the tissue level. Copied from [2]. (a) Cells are irradiated with a high dose of ionizing radiation.

(a) Bystander cells in the proximity of directly exposed cells would be subjected to stress signals propagated by the irradiated cells. (b) The majority of directly irradiated cells die, but the few surviving cells may harbor radiation-induced damages. (c) To replenish the tissue following death of directly irradiated cells and to compensate for the slower dividing progeny of directly irradiated cells, the surrounding bystander cells may divide more than they normally would without radiation exposure, leading to faster telomere shortening and localized, accelerated aging in the irradiated tissue [2].

и непрямым воздействием ИИ, могут привести к геномной нестабильности. К примеру, во время пролиферации хромосомное повреждение, вызванное ИИ, запускает DDR, а белки DDR тесно связаны с теломерными белками и тем самым могут влиять на гомеостаз теломер. Эти факторы могут приводить к серьезным последствиям для здоровья человека в отдаленный период [2, 25]. Можно предположить, что дисфункция теломер является важным фактором геномной нестабильности.

Воздействие ИИ может приводить к временному блоку митоза: облученные клетки продолжают пролиферировать, но значительно медленнее, чем необлученные. По мере заполнения ткани новыми клетками и для компенсации медленной пролиферации облученных клеток необлученные, соседние клетки, подверженные эффекту свидетеля (*bystander effect*), начинают делиться активнее нормальных необлученных. Это

приводит к быстрому укорочению теломер и ускоренному репликативному старению [2].

Дисфункция теломер маловероятна за счет прямого воздействия ИИ, поскольку теломеры составляют незначительную часть (0.02%) от всего генома. Поэтому основным механизмом радиационно-индуцированного повреждения теломер, по-видимому, является косвенное воздействие чрезмерных уровней активных форм кислорода (АФК), таких как  $H^{\cdot}$ ,  $OH^{\cdot}$ ,  $HO_2^{\cdot}$  [26], возникающих в результате митохондриальной дисфункции и радиолитиза; молекулярные структуры повреждаются ими напрямую и/или за счет эффекта свидетеля (рис. 4) [2].

Отдельно стоит отметить влияние АФК на теломеры. Свободные радикалы приводят к модификации азотистых оснований (в частности, гуанин превращается в *8-оксогуанин*; *8-oxoGua*) (рис. 5). Гуанин в ДНК, обладая самым низким среди природных азотистых оснований окисли-

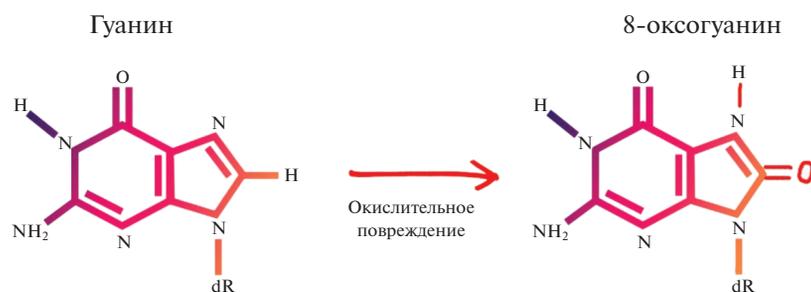


Рис. 5. Модификация гуанина в результате окисления.

Fig. 5. Oxidative modification of guanine.

тельно-восстановительным потенциалом (1.29 мВ относительно нормального водородного электрода [27]), легко окисляется в положении С8, образуя 8-охо-G [28]. Образование 8-охо-G (и продуктов его модификации) является наиболее распространенным видом окислительного повреждения нуклеиновых кислот [29]; 8-охо-G является одним из основных биомаркеров окислительного стресса [27, 30]. Окислительное повреждение азотистых оснований может привести к одноцепочечным разрывам ДНК и потере дистальных фрагментов теломерной ДНК в ходе репликации и к укорочению теломер. [31]. Высокая частота встречаемости остатков гуанина (-TTAGGG-) в теломерных последовательностях ДНК делает теломеры предпочтительными мишенями для окислительного повреждения.

В клетках млекопитающих реализуются два механизма репарации двухнитевых разрывов ДНК (ДНР): негомологичное воссоединение концов (NHEJ, Non-Homologous End Joining) и гомологичная репарация (HR, Homologous Recombination). Эти же механизмы ответственны за восстановление повреждений, возникающих в теломерах [20]. Поэтому в отдельных случаях, когда присутствует нарушение механизмов репарации теломер, происходит перегрузка общей системы репарации повреждений. Все это накладывается на естественное клеточное старение и рецессивные мутации, накапливаемые в геноме, и приводит к отдаленной геномной нестабильности.

На теломерном уровне постоянное укорочение в конечном итоге приводит к теломерной дисфункции через активацию сигналов DDR. Специфическая передача сигнала от поврежденных теломер запускает клеточное старение и угнетает пролиферацию [32]. Но данный процесс не является потенциально опасным для геномной стабильности. Однако если предположить, что несколько дисфункциональных теломер не индуцируют передачу DDR-сигнала и клетка не заблокирует пролиферацию и не запустит старение, а продолжит существовать и делиться, пока не укоротится до теломерного кризиса, то вероятность

развития геномной нестабильности сильно возрастает. После критического укорочения теломер хромосома может претерпеть крупное фракционирование или деградацию. Потеря теломеры может привести к потере гетерозиготности [14]. “Слишком” большая нестабильность может привести к преждевременному старению или гибели клетки, а “недостаточная” может замедлить пролиферацию и привести к канцерогенезу [33].

Чтобы оценить роль теломер в чувствительности организма к ионизирующему излучению, исследовали мышей с инактивированной теломеразой ( $mTR^{-/-}$ ). У этих грызунов отсутствует теломераза и наблюдается укорочение теломер со скоростью 4–5 т.н.п. с каждым поколением [34]. В схему исследования входили мыши дикого типа (WT) и мыши с инактивированной теломеразой ( $mTR^{-/-}$ ). Мыши пятого поколения ( $G5mTR^{-/-}$ ) обладали теломерами на 40% короче, чем дикий тип. Грызунов подвергали воздействию  $\gamma$ -излучения фракциями по 1.75 Гр с мощностью 1.14 Гр/мин в течение недели. Суммарная доза к концу недели составляла 10.5 Гр. В отличие от WT и предыдущих поколений, 60% мышей  $G5mTR^{-/-}$ , подвергшихся облучению, погибли после шестой фракции  $\gamma$ -облучения. У них наблюдались аплазия костного мозга, дегенерация париетальных клеток желудка, кистозные образования слизистой оболочки желудка, дегенерация ворсинок и крипт тонкого кишечника и лучевая нефропатия [34]. Дополнительно исследовали, какие изменения наблюдаются на клеточном уровне. До облучения у мышей были выделены спленоциты и стимулированы специфическим митогеном В-лимфоцитов (LPS). Через 48 ч спленоциты исследуемых групп были облучены в разных дозах: 1.75 и 4 Гр. В группе мышей  $G5mTR^{-/-}$  наблюдался выраженный апоптоз ( $63.9 \pm 8.9\%$ ) против  $36.0 \pm 6.2\%$  в группе WT (табл. 1) [34].

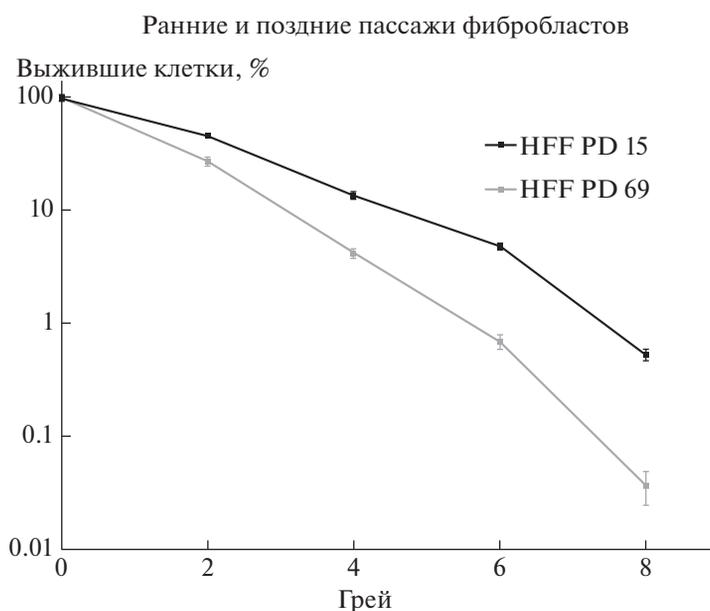
Чтобы лучше понимать связь между короткими теломерами и чувствительностью к воздействию ИИ [24], было исследовано влияние ИИ на компоненты DDR в нормальных человеческих фибробластах (HFFs). Для этого сравнили длину

**Таблица 1.** Апоптоз и профили клеточного цикла LPS-стимулированных необлученных и облученных спленоцитов мышей WT, G2, G5 и G6mTR<sup>-/-</sup> [34]**Table 1.** Apoptosis and cell cycle profiles in LPS-stimulated radiation exposed and unexposed splenocytes of WT, G2, G5 and G6mTR<sup>-/-</sup> mice [34]

Генотип (доза)	n	48 ч после стимуляции, %		
		апоптоз	G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub>	S/G <sub>2</sub>
WT (0 Гр)	5	9.6 ± 2.0	59.6 ± 13.3	32.2 ± 13.4
WT (1.75 Гр)	5	26.4 ± 8.3	46.8 ± 10.9	26.7 ± 12.2
WT (4 Гр)	5	36.0 ± 6.2	43.8 ± 6.2	19.9 ± 9.7
G2mTR <sup>-/-</sup> (0 Гр)	3	5.1 ± 3.7	58.0 ± 19.2	36.8 ± 16.6
G2mTR <sup>-/-</sup> (1.75 Гр)	3	26.3 ± 14.9	43.3 ± 7.1	29.9 ± 21.9
G2mTR <sup>-/-</sup> (4 Гр)	3	49.2 ± 15.9	32.9 ± 8.9	17.5 ± 12.3
G5mTR <sup>-/-</sup> (0 Гр)	5	10.1 ± 4.6	55.8 ± 11.6	34.0 ± 8.2
G5mTR <sup>-/-</sup> (1.75 Гр)	6	39.6 ± 17.4	36.0 ± 11.0	24.3 ± 12.5
G5mTR <sup>-/-</sup> (4 Гр)	5	63.9 ± 8.9	25.9 ± 7.7	10.1 ± 5.4
G6mTR <sup>-/-</sup> (0 Гр)	2	9.7 ± 8.8	55.7 ± 9.5	34.7 ± 2.5
G6mTR <sup>-/-</sup> (1.75 Гр)	2	40.0 ± 25.7	39.9 ± 15.1	19.6 ± 8.3
G6mTR <sup>-/-</sup> (4 Гр)	2	63.8 ± 2.1	26.0 ± 2.8	10.3 ± 2.1

теломер фибробластов раннего пассажа (PD15, с длинными теломерами) и позднего пассажа (PD69, с короткими теломерами) после облучения в дозах 2, 4, 6 и 8 Гр. Результаты показали, что поколение PD69 оказалось более радиочувствительным по сравнению с ранним поколением (рис. 6) [35].

Чтобы охарактеризовать кинетику замедленной репарации ДНК, наблюдаемую в поздних поколениях HFFs, исследовали роль ATM в DDR. В ходе DDR быстро фосфорилируется ATM, приводя к остановке клеточного цикла, старению клетки и апоптозу. Субстратами для ATM являются p53, NBS1, H2AX, 53BP1, BRCA1, SMC1 и

**Рис. 6.** Клетки с короткими теломерами более чувствительны к воздействию ионизирующего излучения. Копия рисунка из работы [35].**Fig. 6.** Cells with shortened telomeres demonstrate higher sensitivity to ionizing radiation. Copied from [35].

Chk2. Результаты исследования показали, что клетки позднего пассажа демонстрировали замедленное фосфорилирование белков-мишеней ATM, таких как H2AX, SMC1 и NBS1 [35].

Ограничены данные о долгосрочном влиянии ИИ на длину теломер *in vivo* в популяциях людей, о чем свидетельствуют противоречивые результаты нескольких представленных ниже исследований.

Чтобы определить, оказывает ли ИИ долгосрочное влияние на организм человека и на длину теломер, в частности, обследована группа ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС. Относительная длина теломер (RTL) была измерена в лейкоцитах периферической крови 595 ликвидаторов и 236 контрольных лиц, соответствующих по полу и возрасту, с использованием q-PCR (количественной ПЦР в реальном времени). Пристальное внимание было уделено году участия и задачам, которые выполнялись рабочими во время пребывания в Чернобыле, состоянию их здоровья. У ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС укорочение теломер не обнаружено; напротив, их RTL была больше, чем в контрольной группе ( $P = 0.001$ ). Причем более длинные теломеры были обнаружены в той группе ликвидаторов, кто выполнял наиболее “грязную” работу в 1986 г. (раскопки и дезактивация). Также длинные теломеры наблюдались у людей со злокачественными новообразованиями (ЗНО). Короткие теломеры часто регистрировались у людей с катарактой, остеопорозом, атеросклерозом и ишемической болезнью сердца [36]. Теломеры оказались длиннее у людей, подвергшихся более мощному воздействию ионизирующего излучения, вероятно, из-за активации теломеразы как механизма репарации хромосом после повреждения. В свою очередь, дефекты в регуляции теломеразы могут усиливать канцерогенез, что объясняет повышенную заболеваемость ЗНО среди ликвидаторов аварии ЧАЭС [36].

Противоположные результаты были получены при обследовании лиц, подвергшихся атомной бомбардировке Хиросимы и Нагасаки. Было обнаружено дозозависимое укорочение теломер лейкоцитов в группе лиц, которые на момент бомбардировки были моложе 12 лет. Эти данные демонстрируют негативное влияние ИИ на теломеры лейкоцитов даже через 50–68 лет после облучения [37]. В другом исследовании для когорты лиц, выживших после атомных бомбардировок Хиросимы и Нагасаки, установлена нелинейная зависимость между дозой облучения и длиной теломер Т-лимфоцитов. Наблюдалась тенденция к укорочению длины теломер при облучении в дозе  $>0.5$  Гр. Также выявлена корреляция между короткими теломерами Т-лимфоцитов и повышенным уровнем гликированного гемоглобина (HbA1c) и с жировым перерождением печени.

Выяснилось, что тенденция к укорочению теломер была менее выражена у индивидов с высоким уровнем липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) [38].

При изучении действия рентгеновского излучения *in vitro* на эндотелиальные клетки пупочной вены человека (HUVECs) выяснили, что после воздействия на клетки низкими дозами рентгеновского излучения (0.5 Гр) в течение первых трех дней их теломеры претерпевают различные изменения. Клетки с длинными теломерами либо не претерпевали изменений, либо теломеры укорачивались незначительно. В отличие от них клетки со средней длиной теломер значительно укорачивались (4.4–6.6 т.н.п.) и становились клетками с наиболее короткими теломерами, тем самым пополнив пул клеток с короткими теломерами. Клетки с наиболее короткими теломерами на третий день после облучения либо погибали, либо их теломеры удлинялись. Важно, что по мере изменения длины теломер, практически не изменялась концентрация теломеразы и теломерных белков TRF1 и TRF2. Ученые связывают уменьшение длины теломер с избыточным радиационно-индуцированным оксидативным стрессом и повреждениями ДНК, в результате чего возникает реорганизация теломер. Случайные повреждения ДНК, вызванные ИИ, генотоксическими агентами, АФК ведут к активации DDR, который часто сохраняется в теломерах. Клетки с постоянно активированным DDR показывают радиочувствительный фенотип, который не зависит от экспрессии теломеразы [39].

По данным Rossiello активация DDR чаще встречалась в тканях у возрастных особей мышей и бабуинов по сравнению с молодыми особями. Высказано предположение, что обладание длинными теломерами в эволюционном плане может носить негативный характер для их обладателя, поскольку длинная теломерная ДНК является более обширной мишенью для случайных повреждений, которые не могут быть репарированы [40].

Персистирующее повреждение ДНК фиксируется флуоресцентной микроскопией за счет детекции гистона H2AX (его фосфорилированной модификации –  $\gamma$ H2AX) и адаптерного белка 53BP1 (p53-binding protein). Фокусы  $\gamma$ H2AX и 53BP1 указывают на наличие ДНР, поэтому оба могут использоваться как “суррогатные” маркеры ДНР. По данным Zhang et al., большая часть устойчивых к репарации повреждений ДНК, вызванных действием рентгеновского излучения, располагались на теломерах: процент связанных с теломерами персистирующих фокусов 53BP1 достигал 30% [41].

Для изучения природы катарактогенеза и определения роли ИИ облучали эмбриональные клетки хрусталика (HLE). Было показано, что в

отличие от фибробластных клеток, с увеличением пассажей длина теломер неожиданно увеличивалась. Для этих же клеток было показано снижение активности теломеразы с каждым пассажем. Исследователи предположили, что теломеры удлинялись за счет альтернативных механизмов (ALT), свойственных опухолевым клеткам. Но эта теория не подтвердилась. Затем клетки облучали в дозах 0.001–2 Гр. Было показано дозозависимое увеличение длины теломер: чем доза была выше, тем длиннее становились теломеры. При этом, несмотря на увеличение длины теломер, было показано дозозависимое увеличение фокусов  $\gamma$ -H2AX (в дозах свыше 0.2 Гр). Однако через 72 ч практически все фокусы  $\gamma$ -H2AX были репарированы (TIF с 4.65 до 0.07). Установлено, что активность теломеразы снижалась в зависимости от дозы. В этом же исследовании окислительный стресс измеряли через 2, 24, 72 ч и 7 сут; и показали, что через 2 ч он возрастал; к 24 ч снижался; а к 7-м суткам уровень АФК отличался у всех доз. Полученные результаты авторы объяснили эмбриональной природой клеток. Увеличение длины теломер, по-видимому, было связано с начальной концентрацией теломеразы, которая оказалась неожиданно высокой в эмбриональных клетках хрусталика [42].

Для выяснения вклада окислительного стресса в радиационно-индуцированное повреждение теломер выполнялось сравнение уровней АФК и длины теломер после воздействия рентгеновского излучения. Выполнялось количественное измерение длины теломер фибробластов HFFF2 в течение 13 дней после рентгеновского облучения в дозе 4 Гр. Показано, что максимальный уровень АФК регистрировался на 3-и сутки после облучения и постепенно снижался к 8-м суткам. Причем, при предварительной обработке фибробластов антиоксидантом N-ацетилцистеином (NAC) не наблюдалось значительного увеличения уровня эндогенного АФК после облучения и длина теломер не изменялась. Для анализа изменения длины теломер в динамике проводили подробное измерение теломер фибробластов с 3-х по 13-е сутки с помощью Q-FISH. Было выявлено изменение длины теломер фибробластов HFFF2 в зависимости от времени, прошедшего после воздействия рентгеновского облучения в дозе 4 Гр: на 3-и сутки регистрировалась значительная эрозия теломер (за счет редукции доли длинных теломер); на 4-е сутки наблюдалась тенденция к удлинению (сократилась доля коротких теломер и увеличилась доля длинных); на 6-е сутки регистрировались резкое увеличение доли коротких теломер и сокращение доли длинных; с 7-х по 13-е сутки регистрировалось стабильное равномерное удлинение теломер.

Также интересен факт, что на 4-е, 8-е и 10-е сутки регистрировалось значимое увеличение кон-

центрации белков RAD51 и RPA2, ответственных за гомологичную репарацию (HR) ДНР, причем максимальная концентрация белков наблюдалась на 8-е сутки: трехкратное увеличение RAD51 и двухкратное RPA2 [43].

## ВЫВОДЫ

1. Данные, представленные в обзоре, свидетельствуют о том, что ионизирующее излучение может оказывать повреждающее действие на теломеры, приводя к их укорочению и дисфункции. В связи с этим можно предположить, что чем короче теломеры, тем организм или его структуры чувствительнее к повреждениям, вызванным ионизирующим излучением.

2. Основной вклад в модуляцию длины теломер после облучения, по мнению исследователей [2, 31, 43], вносит окислительное повреждение.

3. Некоторые метаболические состояния, образ жизни и болезни индивидуума способствуют укорочению теломер, тем самым повышая его восприимчивость к действию ионизирующего излучения [38].

4. Дальнейшее изучение влияния ионизирующего излучения на функцию теломер и их роль в патогенезе радиационно-индуцированных эффектов остается одной из важнейших задач радиобиологии.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Shammas M.* Telomeres, lifestyle, cancer, and aging // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 2011. V. 14. P. 28–32. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e32834121b1>
2. *Shim G., Ricoul M., Hempel W. et al.* Crosstalk between telomere maintenance and radiation effects: A key player in the process of radiation-induced carcinogenesis // *Mutat. Res.* 2014. V. 760. P. 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.mrrrev.2014.01.001>
3. *De Lange T.* Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres // *Gen. & Develop.* 2005. V. 19. P. 2100–2110. <https://doi.org/10.1101/gad.1346005>
4. *Palm W., De Lange T.* How shelterin protects mammalian telomeres // *Annu. Rev. Genet.* 2008. V. 42. P. 301–334. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.41.110306.130350>
5. *Ye J., Donigian J.* TIN2 binds TRF1 and TRF2 simultaneously and stabilizes the TRF2 complex on telomeres // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. P. 47264–47271. <https://doi.org/10.1074/jbc.M409047200>
6. *Taylor D., Podell E.* Multiple POT1–TPP1 proteins coat and compact long telomeric single-stranded DNA // *J. Molec. Biol.* 2011. V. 410. P. 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2011.04.049>
7. *Zhdanova N., Minina J.* Mammalian telomere biology // *Molec. Biol.* 2012. V. 46. P. 539–555.

8. *Li J., Fuste M., Simavorian T.* TZAP: a telomere-associated protein involved in telomere length control // *Sci.* 2017. V. 355. P. 638–641. <https://doi.org/10.1126/science.aah6752>
9. *Olovnikov A.* A theory of marginotomy. The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon // *J. Theor. Biol.* 1973. V. 41. № 1. P. 181–90. [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(73\)90198-7](https://doi.org/10.1016/0022-5193(73)90198-7)
10. *Harley C., Fitcher A.* Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts // *Nature.* 1990. V. 345. P. 458–460. <https://doi.org/10.1038/345458a0>
11. *Fumagalli M., Rosiello F.* Telomeric DNA damage is irreparable and causes persistent DNA-damage-response activation // *Nature Cell Biol.* 2012. V. 14. P. 355–365. <https://doi.org/10.1038/ncb2466>
12. *Takai H., Smogorzewska T.* DNA damage foci at dysfunctional telomeres // *Curr. Biol.* 2003. V. 13. P. 1549–1556. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(03\)00542-6](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(03)00542-6)
13. *Raynaud C., Hernandez J.* DNA damage repair and telomere length in normal breast, preneoplastic lesions, and invasive cancer // *Am. J. Clin. Oncol.* 2010. V. 33. P. 341–345. <https://doi.org/10.1097/COC.0b013e3181b0c4c2>
14. *Kaul A., Cesare L.* Five dysfunctional telomeres predict onset of senescence in human cells // *EMBO Rep.* 2012. V. 13. P. 52–59. <https://doi.org/10.1038/embor.2011.227>
15. *D'Adda di Fagagna F., Reaper P.* A DNA damage checkpoint response in telomere-initiated senescence // *Nature.* 2003. V. 426. P. 194–198. <https://doi.org/10.1038/nature02118>
16. *Ducray C., Pommier J.* Telomere dynamics, end-to-end telomerase activation during the human fibroblast immortalization process // *Oncogene.* 1999. V. 18. P. 4211–4223. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1202797>
17. *Hayflick L., Moorhead P.* The serial cultivation of human diploid cell strains // *Experim. Cell Res.* 196. V. 25. P. 585–621. <https://doi.org/10.1016/0014-4827>
18. *Bryan T., Englezou A.* Telomere elongation in immortal human cells without detectable telomerase activity // *EMBO J.* 1995. V. 14. P. 4240–4248. <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1995.tb00098.x>
19. *Smogorzewska A., de Lange T.* Regulation of telomerase by telomeric proteins // *Ann. Rev. Biochem.* 2004. V. 73. P. 177–208. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.73.071403.160049>
20. *Jeggo P.* DNA breakage and repair // *Advan. Genet.* 1998. V. 38. P. 185–218. [https://doi.org/10.1016/s0065-2660\(08\)60144-3](https://doi.org/10.1016/s0065-2660(08)60144-3)
21. *Hall E.* Radiobiology for the Radiologist, 6th edition // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2006. V. 66. P. 627. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2006.06.027>
22. *Cucinotta F., Nikjoo H., Goodhead D.* Model for radial dependence of frequency distributions for energy imparted in nanometer volumes from HZE particles // *Radiat. Res.* 2000. V. 153. P. 459–468.
23. *Baulch J.* Radiation-induced genomic instability, epigenetic mechanisms and the mitochondria: a dysfunctional ménage à trois? // *Int. J. Radiat. Biol.* 2019. V. 95. P. 516–525. <https://doi.org/10.1080/09553002.2018.1549757>
24. *Morgan W.* Radiation-induced genomic instability // *Health Phys.* 2011. V. 100. P. 280–281. <https://doi.org/10.1097/HP.0b013e3182082f12>
25. *Normatova M.* Chromatin structure and dna damage response // *Avicenna Bull.* 2017. V. 19. P. 120–124. <https://doi.org/10.25005/2074-0581-2017-19-1-120-124>
26. *Steenken S., Jovanovic S.* How easily oxidizable is DNA? One electron reduction potentials of adenosin and guanosine radicals in aqueous solution // *J. Am. Chem. Soc.* 1997. V. 119. P. 617–618.
27. *Marmiy N., Esipov D.* 8-oxo-2'-deoxyguanosine – Biomarker, Signal Molecule, Potential Pharmaceutical Agent // *Sci. J. VolSU. Nat. Sci.* 2018. V. 8. P. 49–52. <https://doi.org/10.15688/jvolsu11.2018.1.9>
28. *Burrows C.J., Muller J.G.* Oxidative nucleobase modifications leading to strand scission // *Chem. Rev.* 1998. V. 98. P. 1109–1152.
29. *Cooke M., Evans M., Dizdaroglu M.* Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease // *FASEB J.* 2003. V. 17. P. 1195–1214.
30. *Kasai H.* Analysis of a form of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis // *Mutat. Res.* 1997. V. 387. P. 147–163.
31. *Coluzzi E., Colamartino M., Cozzi R. et al.* Oxidative stress induces persistent telomeric DNA damage responsible for nuclear morphology change in mammalian cells // *PLoS ONE.* 2014. V. 9. № 10. P. 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110963>
32. *Harley C., Fitcher A.* Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts // *Nature.* 1990. V. 345. P. 458–460. <https://doi.org/10.1038/345458a0>
33. *Komarova N., Wodarcz D.* The optimal rate of chromosome loss for the inactivation of tumor suppressor genes in cancer // *Proc. Nation Acad. Sci.* 2004. V. 101. № 18. P. 7017–7021. <https://doi.org/10.1073/pnas.0401943101>
34. *Goytisolo F., Samper E.* Short telomeres result in organismal hypersensitivity to ionizing radiation in mammals // *J. Experim. Med.* 2000. V. 192. № 11. P. 1625–1636. <https://doi.org/10.1084/jem.192.11.1625>
35. *Drissi W., Wu J.* Telomere shortening alters the kinetics of the DNA damage response after ionizing radiation in human cells // *Cancer Prev. Res.* 2011. V. 4. № 12. P. 1973–1981. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-11-0069>
36. *Reste J., Zvigule G., Zvagule T.* Telomere length in Chernobyl accident recovery workers in the late period after the disaster // *J. Radiat. Res.* 2014. V. 55. № 6. P. 1089–1100. <https://doi.org/10.1093/jrr/rru060>
37. *Lustig A., Shterev I.* Long term effects of radiation exposure on telomere lengths of leukocytes and its associated biomarkers among atomic-bomb survivors // *Oncotarget.* 2016. V. 7. № 26. P. 38988–38997. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.8801>

38. *Yoshida K., Misumi M.* Long-term effects of radiation exposure and metabolic status on telomere length of peripheral blood T-cells in atomic bomb survivors // *Radiat. Res.* 2016. V. 186. № 4. P. 367–376.
39. *Guan J., Guan W.* Changes in telomere length distribution in low-dose X-ray-irradiated human umbilical vein endothelial cells // *Molec. Cell. Biochem.* 2014. V. 396. P. 129–135.  
<https://doi.org/10.1007/s11010-014-2149-5>
40. *Rossiello F., Herbig U.* Irreparable telomeric DNA damage and persistent DDR signaling as a shared causative mechanism of cellular senescence and ageing // *Curr. Opin. Genet. Develop.* 2014. V. 26. P. 89–95.  
<https://doi.org/10.1016/j.gde.2014.06.009>
41. *Zhang X., Ye C., Sun F. et al.* Both complexity and location of DNA damage contribute to cellular senescence induced by ionizing radiation // *PLoS ONE.* 2016. V. 11. № 5. P. 1–16.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155725>
42. *Bains S., Chapman K.* Effects of ionising radiation on telomere length and telomerase activity in cultured human lens epithelium cells // *Int. J. Radiat. Biol.* 2019. V. 95. № 1. P. 54–63.  
<https://doi.org/10.1080/09553002.2018.1466066>
43. *De Vitis M., Berardinelli F., Coluzzi E.* X-rays activate telomeric homologous recombination mediated repair in primary cells // *Cells.* 2019. V. 8. № 7. P. 708–727.  
<https://doi.org/10.3390/cells8070708>

## Ionizing Radiation Effects on Telomeres

V. S. Makeeva<sup>a,#</sup>

<sup>a</sup>*Southern Urals Biophysics Institute, Ozyorsk, Russia*

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

To date telomere length is an informative and important biomarker of the overall health, aging, effects of environmental and life-style factors and stress. Recently a number of studies have suggested a correlation between the telomere length and severity of radiation-induced effects. In this review this issue is explored.

**Keywords:** telomeres, telomerase, ionizing radiation, telomere shortening

## РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ

УДК [57+61]:616-006.6:611.24:577.2:599.323.4:615.849:539.1.047

### СВЯЗЬ МЕЖДУ ДИНАМИКОЙ РОСТА ПЕРЕВИВНОЙ КАРЦИНОМЫ ЛЬЮИСА У МЫШЕЙ И ИЗМЕНЕНИЕМ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ И НЕКОДИРУЮЩИХ РНК ПОСЛЕ РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ

© 2022 г. **В. Ф. Михайлов**<sup>1</sup>, Д. В. Салеева<sup>1,\*</sup>, Л. В. Шуленина<sup>1</sup>, Н. Ф. Раева<sup>1</sup>,  
Л. М. Рождественский<sup>1</sup>, Г. Д. Засухина<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

\*E-mail: [dasha\\_saleeva@inbox.ru](mailto:dasha_saleeva@inbox.ru)

Поступила в редакцию 22.06.2021 г.

После доработки 27.10.2021 г.

Принята к публикации 09.11.2021 г.

Изучено влияние малых доз радиации на динамику роста перевивной карциномы Льюиса у самок-мышей линии C57Bl/6. Четырехкратное тотальное фракционированное воздействие рентгеновского облучения проводили в дозе 75 мГр при мощности дозы 0.154 Гр/мин и напряжении 200 кВ, начиная с 10-х суток после трансплантации с 4-суточным интервалом. В группе облученных мышей отмечали снижение скорости роста опухоли, преимущественно с 20-х суток, сопровождавшееся изменением активности исследованных генетических структур. Анализ экспрессии генов и некодирующих РНК (микроРНК и длинных некодирующих РНК) в клетках опухоли, а также в нормальных тканях (костный мозг, печень, селезенка) на 14-е и 22-е сутки показал, что количество активированных онкогенов в опухолевой ткани превалировало над количеством активированных онкосупрессоров. Отличный от опухоли эффект наблюдался для клеток нормальных органов. Для всех исследованных тканей было рассчитано соотношение активностей онкосупрессоров к онкогенам. Эти доли составили 0.5 для опухоли, 10.7 для костного мозга и 2.4 для селезенки и тимуса. Таким образом, можно констатировать, что в опухоли наблюдалась особенно выраженная активация онкогенов по сравнению с активностью онкосупрессоров, в то же время в нормальных органах отмечался противоположный эффект.

**Ключевые слова:** малые дозы радиации, карцинома Льюиса, гены, некодирующие РНК, онкогены, онкосупрессоры, *P53*, *NFκB*

**DOI:** 10.31857/S0869803122010088

Многолетнее господствующее представление о беспороговом действии радиации в последнее время претерпело существенные изменения. Была показана разнонаправленность действия высоких и малых доз радиации. Так, высокие дозы радиации (ВДР) подавляли иммунный ответ организма, тогда как малые дозы радиации (МДР) стимулировали его. Кроме того, действие ВДР ингибировало защитные механизмы клетки, а воздействие МДР усиливало иммунный ответ. Эффект воздействия радиации на биологические объекты может быть объяснен балансом между уровнем ДНК-повреждений и механизмами клеточной защиты, которые эффективны при воздействии МДР и мало эффективны – при ВДР. Многие поврежденные клетки, в том числе пренеопластические, могут быть элиминированы в результате усиления активности иммунной си-

стемы и апоптоза. Однако при действии МДР превалируют репарационные процессы, включают активацию клеточно-мембранных рецепторов и секреция цитокинов [1]. На животных при воздействии МДР показано повышение уровня эндогенных антиоксидантов, включая индукцию каталазы, глутатионредуктазы, СОД и других агентов в различных тканях, включая печень, селезенку, костный мозг [2].

На основании исследованных механизмов действия малых доз можно сделать вывод об их позитивном воздействии на процессы жизнедеятельности за счет формирования адаптивного ответа и эффекта гормезиса.

Последние годы МДР стали применять для лечения ряда патологий человека: аутоиммунных и воспалительных процессов, артритов и других заболеваний [3–5]. Действие МДР на пренеопла-

стические процессы мышечной ткани выявило, во-первых, снижение выхода опухолей за счет повышения чувствительности злокачественных клеток к облучению, во-вторых, уменьшение объема новообразований при фракционированном облучении в малой дозе. Однако вовлеченность генов и их регуляторов в положительные эффекты МДР недостаточно изучена. Имеются только отдельные сообщения об изменении активности или структурных генов, или некодирующих РНК. Показана роль микроРНК как биомаркеров эффективности ответа на воздействие радиации. Изучение этих структур считается перспективной стратегией для защиты здоровых клеток и тканей от воздействия ионизирующего излучения [6].

Так, микроРНК, которые могут регулировать ответ на радиотерапию, можно разделить на две группы, которые способствуют радиорезистентности или радиочувствительности клеток. В работе [7] сообщают о 36 идентифицированных микроРНК, ассоциированных с ответом на радиотерапию. Определяя чувствительность микроРНК, можно использовать этот подход для выяснения причин неэффективности радиотерапии у онкологических пациентов с целью последующей коррекции [7].

Ингибирование апоптоза, неконтролируемый клеточный рост, активация ареста клеточного цикла и ДНК-репарации являются ключевыми механизмами, определяющими радиорезистентность опухоли [8].

В настоящее время известен ряд микроРНК, функции которых заключаются в подавлении регуляции клеточного цикла в опухолях и ингибировании их инвазии, а также обеспечивающие повышение радиочувствительности опухолевых клеток. С другой стороны, существуют микроРНК, регулирующие ряд своих мишеней, вовлеченные в процессы клеточного цикла и обеспечивающие радиочувствительность злокачественных клеток за счет подавления процессов выживаемости [9].

Целью наших исследований было изучение комплекса генетических структур (гены, микроРНК и днРНК) в динамике на скорость роста опухоли у мышечной линии C57Bl/6, инокулированной карциномой Льюиса при воздействии МДР. При этом исследовали активность этих показателей в разных органах мышечной, различающихся по чувствительности к воздействию радиации. Анализ данных позволил выявить роль соотношения активности онкогенов и онкосупрессоров на процессы опухолеобразования при фракционированном облучении в малой дозе, а также оценить возможные показатели, способствующие тенденции уменьшения размеров опухоли для возможного использования при радиотерапии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Объектом исследования служили 40 мышечных-самки линии C57Bl/6 массой 20–22 г. Распределение мышечных осуществляли по следующим группам: “биоконтроль” – интактные мыши (без опухоли и облучения); “опухоль” – мыши с трансплантированной опухолью; “опухоль + облучение” – мыши с трансплантированной опухолью, подвергшиеся облучению в МДР.

### *Трансплантация опухолевой ткани*

Культура клеток легочной карциномы Льюиса была получена в Центре онкологии им. Н.Н. Блохина. Для получения опухолевой суспензии извлекали опухоль у мышечной-донора. Навеску опухоли (4 г) с раствором Хенкса (24 мл) измельчали палочкой в ступке и отфильтровывали через сито. Полученную 14%-ную суспензию диспергированной опухолевой ткани в объеме 0.2 мл вводили подкожно в правую заднюю лапу мышечной (10<sup>5</sup> клеток в 0.2 мл р-ра Хенкса/животное). Измерение опухоли у каждого животного производили ежедневно за исключением выходных, начиная с 13-х суток после введения клеток, когда объем опухоли был достаточно выражен.

### *Облучение животных*

Тотальное 4-кратное рентгеновское облучение в дозе 75 мГр проводили на аппарате РУСТ М1 (Россия) на 10-е, 13-е, 17-е и 21-е сутки после трансплантации опухолевых клеток с расположением каждой мышечной в отдельной ячейке планшета. Пониженную мощность дозы (0.154 Гр/мин) получали путем снижения тока на трубку до 0.7 мА при напряжении 200 кВ. Дозиметрию в ячейках планшета проводили с помощью термoluminescentных дозиметров.

Мышечные подвергали эвтаназии путем декаптации на 14-е и 22-е сутки после трансплантации. Костный мозг выделяли из большой бедренной кости в 0.8 мл среды RPMI-1640 (Sigma Aldrich), с глутамином без фенола красного, pH = 7.2–7.4. Полученная суспензия костного мозга содержала (0.5–2) × 10<sup>6</sup> клеток в 0.1 мл и хранилась при –70°C до использования. Также извлекали селезенку, тимус, печень, опухоли бедренной кости, замораживали и хранили при –70°C.

Часть животных в каждой из двух групп с опухолями выделяли для наблюдения за выживаемостью вплоть до полного падежа, реализующегося примерно в течение месяца после трансплантации опухолевых клеток. Схема опыта изображена на рис. 1.



**Рис. 1.** Схема опыта на мышах с перевитой карциномой Льюиса и облучением в малой дозе.

**Fig. 1.** Scheme of the experiment on mice with transplanted Lewis carcinoma and irradiated at a low-dose radiation.

### Получение гомогената и выделение тотальной РНК

Образцы биоптатов органов и опухоли мышей одинаковой массы (0.1 г) обрабатывали на механическом гомогенизаторе Daihan HS (Ю. Корея) в 1 мл раствора охлажденного тризола или фосфатного буфера. Выделение тотальной РНК проводили тризольным методом с использованием набора “Trizol RNA Prep 100” в соответствии с протоколом фирмы-производителя. Метод основан на применении лизирующего реагента Trizol (гуанидинтиоционат с фенолом, pH = 4.0) с добавлением хлороформа и последующим осаждением РНК спиртом из водной фазы.

### Обратная транскрипция и ПЦР в реальном времени

Синтез комплементарной ДНК проводили с помощью набора лиофилизированных реагентов для проведения реакции обратной транскрипции “GenePak RT Core” (ООО “Лаборатория Изоген”, Россия), содержащего 100 ед. обратной транскриптазы М-MLV (“Promega”, США), 20 ед. ингибитора РНК-аз RNasin, случайные гекса- и нанонуклеотидные праймеры, дезоксинуклеотидтрифосфаты и оптимизированную буферную систему. Реакцию обратной транскрипции для miR-21 осуществляли по технологии “stem loop”, где использовали праймер: L-5'-GTCGTATC-CAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGG-ATACGACTCAACAT-3' (50 нмоль/л) и набор “GenePak RT Core” (ООО “Лаборатория Изоген”, Россия), без добавления случайных гекса- и нанонуклеотидных праймеров.

ПЦР в реальном времени проводили на амплификаторе “DTprime 5M3” (НПО ДНК-Технология, Россия) с использованием красителя SYBR Green I (Thermo Scientific, США) или TaqMan-зонда. Условия ПЦР-РВ для генов и

микроРНК были подобраны эмпирическим путем с помощью температурного градиента по матрице. Каждую ПЦР проводили не менее двух раз. Результаты, полученные с помощью ПЦР, анализировали методом  $\Delta\Delta Ct$  [10]. В качестве эндогенного контроля экспрессии генов и некодирующих РНК был выбран ген *GAPDH*. Нуклеотидная последовательность праймеров и зондов для исследуемых генов, а также условия для ПЦР-РВ представлены в табл. 1.

### Статистическая обработка результатов

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета статистических программ STATISTICA 7.0, которая включала в себя определение медианы и 25 и 75% квартилей [11]. Для оценки значимости различий применяли непараметрический критерий Манна–Уитни. Значения медианы в контрольной группе были приняты за единицу, а значения медианы в исследуемых группах показывали, во сколько раз уровень экспрессии показателя выше или ниже по отношению к контрольной группе. Различия признавали статистически значимыми при  $p < 0.05$  и  $p < 0.1$ , где  $p$  – показатель статистической значимости данных.

Корреляционные зависимости рассчитывали по непараметрическому ранговому критерию Манна–Уитни, поскольку большая часть данных не подчинялась нормальному распределению, и по ранговому критерию Спирмена. Также для оценки корреляции был применен регрессионный анализ.

**Таблица 1.** Нуклеотидная последовательность праймеров и зондов для мРНК исследуемых генов и некодирующих РНК и температурно-временной режим ПЦР в реальном времени  
**Table 1.** The nucleotide sequence of primers and probes for mRNA of the studied parameters and conditions for real-time PCR for genes, microRNA and long non-coding RNA

Параметр	Олигонуклеотидная последовательность праймеров и зондов и их концентрации	Условия ПЦР в реальном времени
<i>P53</i>	F: 5'-TCTGGGACAGCCAAGTCTGT-3' R: 5'-GGAGTCTTCCAGTGTCAATGA-3' 300 нмоль/л	Предварительная денатурация (ПД): 95°C/10 мин, далее 35 циклов: 94°C/30 с, 51.9 °C/50 с и 72°C/80 с
<i>PTEN</i>	F: 5'-AATTCCCAGTCAGAGGCGCTATGT-3' R: 5'-GATTGCAAGTTCCGCCACTGAACA-3' 100 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 95°C/20 с, 64°C/20 с
<i>p38α</i>	F: 5'-AAGGGAACGAGAAAAGTCTGTT-3' R: 5'-TATTTTAACCAGTGGTATTATCTGACA TCCT-3' FAM-TTGATTTGTGAACCTGGCTGTAATCT GGTAT-GCC-TAMRA 300 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 95°C/20 с, 59°C/45 с и 72°C/20 с
<i>TAL1</i>	F: 5'-CTGTGTCAATCCAGGTGGTG-3' R: 5'-GATGGGGCCTTTGGATATTT-3' 300 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 94°C/30 с, 62°C/30 с
<i>CTCF</i>	F: 5'-CGCGAAGAATGACCACAAAT-3' R: 5'-GACTCCTCCACAATGGCTTC-3' 300 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 95°C/15 с, 51.4°C/45 с и 72°C/60 с
<i>Cyclin E2</i>	F: 5'-AGGAATCAGCCCTTGCAATATC-3' R: 5'-CCCAGCTTAAATCTGGCAGAG-3' 200 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 94°C/30 с, 58°C/20 с и 72°C/20 с
<i>G-SCF</i>	F: 5'-CTCAACTTTCTGCCAGAGG-3' R: 5'-AGCTGGCTTAGGCACTGTGT-3' 300 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 95°C/15 с, 56°C/30 с и 72°C/30 с
<i>TNFα</i>	F: 5'-CCAGGCAGTCAGATCATCTTC-3' R: 5'-TTGATGGCAGAGAGGAGGTT-3' 300 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 95°C/15 с, 55°C/30 с и 72°C/30 с
<i>IAP1</i>	F: 5'-TTCTGTAAGGCCACCTAGTGTTTC-3' R: 5'-CATCATTTGCGATCCACGTAATAG-3' 300 нмоль/л	ПД: 95°C/2 мин, далее 40 циклов: 95°C/15 с, 60°C/30 с и 70°C/30 с
<i>IAP2</i>	F: 5'-ATGTCAGAGCACCAGAGGC ATT-3' R: 5'-AGAGACAGTGTATCTCGAAGCAGAT-3' 300 нмоль/л	ПД: 95°C/2 мин, далее 40 циклов: 95°C/15 с, 60°C/30 с и 70°C/30 с
<i>IκBα</i>	F: 5'-CGCTTGGTGGACGATCG-3' R: 5'-TTGCTCGTACTCCTCGTCCCTTC-3' 300 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 95°C/15 с, 59°C/30 с и 72°C/30 с
<i>iNOS</i>	F: 5'-СТАТCAGGAAGAAATGCAGGAGAT-3' R: 5'-GAGCACGCTGAGTACCTCATT-3' 300 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 95°C/15 с, 61°C/30 с и 72°C/30 с
<i>NFκB (p50)</i>	F: 5'-GAAATTCCTGATCCAGACAAAAAC-3' R: 5'-ATCACTTCAATGGCCTCTGTGTAG-3' 600 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 95°C/15 с, 60°C/30 с и 72°C/30 с

Таблица 1. Окончание

Параметр	Олигонуклеотидная последовательность праймеров и зондов и их концентрации	Условия ПЦР в реальном времени
<i>NFkB (p65)</i>	F: 5'-СТТССТСAGCCATGGTACCTCT-3' R: 5'-CAAGTCTTCATCAGCATCAAACCTG-3' 300 нмоль/л	ПД: 95°C/2 мин, далее 45 циклов: 95°C/30 с, 60°C/60 с
PINT	F: 5'-TCCTCTGGAGTGAGGAGGAA-3' R: 5'-CCTGTCTCAGAGTCCCCATC-3' 200 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 95°C/15 с, 56°C/45 с и 72°C/20 с
MALAT1	F: 5'-AGCGAGTTGGTGATGAAG-3' R: 5'-TGCCGACCTCAAGGAATGT TAC-3' 300 нмоль/л	ПД: 94°C/10 мин, далее 45 циклов: 94°C/10 с, 60°C/45 с
DINO	F: 5'-GCAATGGTGTGCCTGACTAT-3' R: 5'-ACTTCTGGCTTCCCAGAG-3' 300 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 94°C/15 с, 60°C/45 с
Incp21	F: 5'-CCTGTCCACTCGCTTTC-3' R: 5'-GGAACCTGGAGACGGAATGTC-3' 300 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 95°C/15 с, 50°C/35 с
NEAT1	F: 5'-GCTCTGGGACCTTCGTGACTCT-3' R: 5'-CTGCCTTGGCTTGGAAATGTAA-3' 100 нмоль/л	ПД: 94°C/10 мин, далее 40 циклов: 94°C/10 с, 60°C/45 с
miR-21	F: 5'-TGCCGCCTAGCTTATCAGACTG-3' R: AGTGCAGGGTCCGAGG-3' 300 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 40 циклов: 94°C/20 с, 57°C/45 с и 72°C/45 с
<i>GAPDH</i>	F: 5'-CATCACCATCTTCCAGGAGCG-3' R: 5'-ACGGACACATTGGGGGTAGG-3' 100 нмоль/л	ПД: 95°C/10 мин, далее 45 циклов: 95°C/20 с, 60°C/25 с

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### *Влияние действия МДР на динамику роста опухолей у мышей, инокулированных карциномой Льюиса*

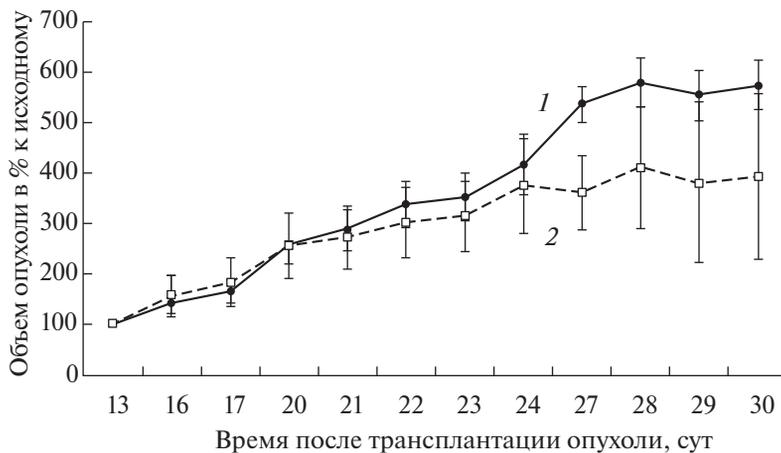
На рис. 2 в динамике представлены усредненные результаты изменения объема инокулированной опухоли в группах необлученных и облученных 4-кратно в малой дозе мышей. Как видно из рис. 2, рост опухоли до 20-х суток в обеих группах происходит абсолютно одинаково, а затем начинается постепенное замедление роста в группе облученных мышей, переходящее после 28 сут на плато у обеих групп, но с выраженной тенденцией к снижению объема опухоли в группе мышей, облученных в малых дозах.

Чтобы охарактеризовать количественно различия в динамике роста опухоли в сравниваемых группах необлученных и облученных в малых дозах мышей, был проведен регрессионный анализ сравниваемых кривых. На рис. 3 представлены регрессионные кривые роста опухолей, их анали-

тические выражения и корреляционные оценки в интервале 13–28 сут после перевивки опухоли.

Из рис. 3 видно, что линейная регрессия значимо аппроксимирует представленные на графике усредненные оценки размеров опухоли для обеих групп мышей. Также видно, что наклон кривой 2 снижен по сравнению с кривой 1, что правомерно отнести на счет 4-кратного воздействия в МДР. Количественно тормозящее действие облучения в МДР можно оценить по отношению коэффициентов регрессий, отражающих скорость роста в относительных единицах (% увеличения за сутки объема опухоли от исходного измерения, принятого за 100). Таким образом, скорость роста в облученной группе составляет от аналогичного показателя в необлученной группе:  $(314.9/410.7) \times 100 = 76.7\%$ .

Учитывая, что облучение происходило в интервале 10–21 сут после трансплантации опухоли и фактическое торможение роста имело место после окончания курса облучения, регрессионный анализ динамики роста был дополнительно применен к периоду 20–28 сут (рис. 4).

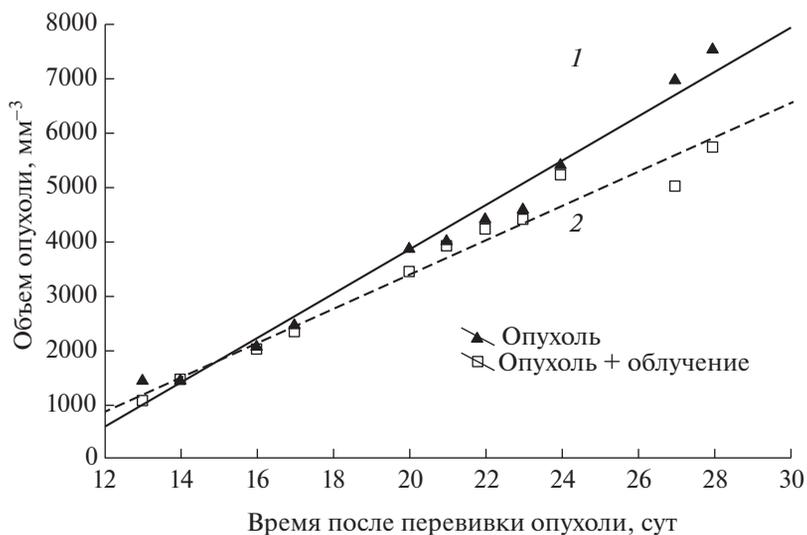


**Рис. 2.** Динамика роста карциномы Льюиса (% к исходному объему на 13-е сутки, когда измерение становится возможным) в группах необлученных (1) и облученных в МДР (2) мышей.

**Fig. 2.** The dynamics of the growth of Lewis carcinoma (% of the initial volume on 13th day after transplantation, when measurement becomes possible) in the groups of unirradiated (1) and irradiated with low doses (2) mice.

Динамика роста опухоли в группах “Опухоль” (1)  
и “Опухоль + облучение” (2)

Опухоль: $y = -4375.07 + 410.7545 \cdot x; r = 0.9899; p = 0$
Опухоль + облучение: $y = -2920.8466 + 314.9525 \cdot x; r = 0.9838; p = 0$



**Рис. 3.** Регрессионный анализ динамики роста опухоли в группах необлученных (1) и облученных (2) мышей.

**Fig. 3.** Regression analysis of the dynamics of tumor growth in the groups of unirradiated (1) and irradiated (2) mice.

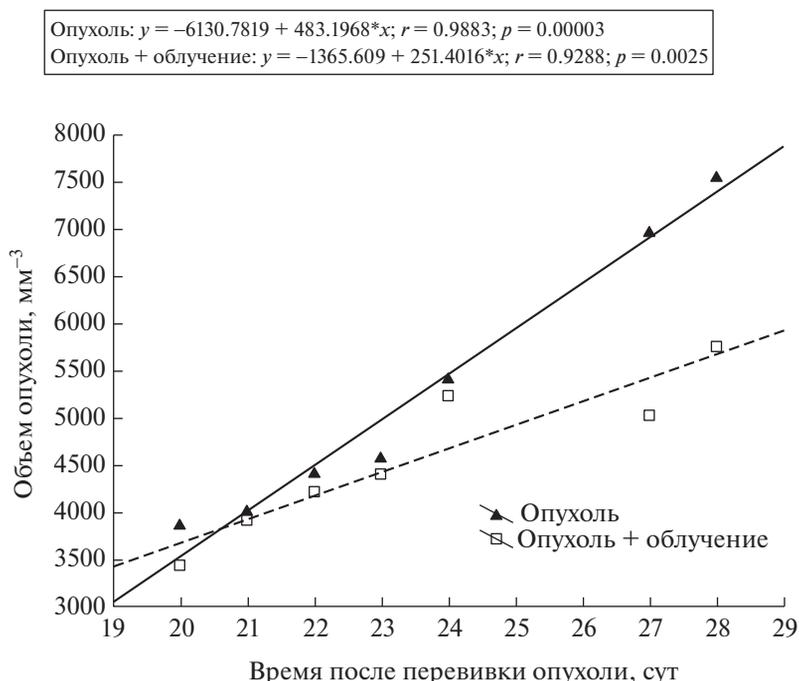
На рис. 4 видно, что усредненные результаты измерений объема опухоли в обеих группах значимо аппроксимируются линейными зависимостями. Количественное соотношение роста опухоли в облученной группе мышей по отношению к необлученной группе составляет  $(251.4/483.2) \times 100 = 52\%$ .

В отношении показателя выживаемости мышей различий между группой “Опухоль” и груп-

пой “Опухоль + облучение” отмечено не было. Средняя продолжительность жизни в первом случае составила 30.6 сут после трансплантации опухолевых клеток, а во втором – 31.3 сут.

Полученный материал из-за небольшого количества животных не дает возможности констатировать увеличение продолжительности жизни. Однако в литературе имеется значительное число публикаций, на разных представителях животно-

Динамика роста опухоли в группах “Опухоль” (1)  
и “Опухоль + облучение” (2)



**Рис. 4.** Регрессионный анализ кривых роста опухоли в группах необлученных и облученных мышей (обозначения как на рис. 3) в интервале 21–28 сут после трансплантации опухолевых клеток.

**Fig. 4.** Regression analysis of tumor growth curves in groups of unirradiated and irradiated mice (notation as in Fig. 3) in the interval of 21–28 days after tumor cell transplantation.

го мира начиная от насекомых и заканчивая человеком, об увеличении этого показателя после применения МДР или при проживании людей в регионах с повышенным фоном радиации [12].

*Динамика изменения активности генов и некодирующих РНК у мышей с трансплантированной карциномой Льюиса*

Нами были исследованы две основные системы, имеющие первую линию защиты при повреждении клеток ионизирующим излучением — P53-система сохранения стабильности генома и NFκB-система воспалительного ответа. Были проанализированы изменения экспрессии генов, днРНК и микроРНК, вовлеченных в каскад реакций, запускаемых ионизирующим излучением.

После воздействия фракционированного облучения на мышей отмечалась значимая положительная корреляция между генами *P53* и *NFκB* и их мишенями. Замечено, что после двух облучений изменения активности генов еще не так выражены.

Воздействие ионизирующего излучения на клетку в зависимости от дозы можно рассматривать по-разному. Высокие дозы ионизирующего

излучения обладают противоопухолевым эффектом, ингибируя пролиферацию злокачественных клеток, индуцируя двухцепочечные разрывы ДНК. С другой стороны, действие МДР имеет защитный эффект и способно активировать иммунную систему организма, формируя адаптивный ответ [3, 13, 14].

На основании литературных данных исследуемые нами показатели можно разделить на две группы: гены и их регуляторы (некодирующие РНК), несущие функцию онкогенов (активирующих рост опухолей), к которым относятся гены *NFκB(p50)*, *NFκB(p65)*, *TNFα*, *G-CSF*, *Cyclin E2*, *IAP1*, *IAP2*, *IkBa*, *iNOS*, *TAL1*, *CTCF*, днРНК *MALAT1*, *NEAT1* и *miR-21*, а также онкосупрессоров (подавляющих рост опухоли), среди которых гены *P53*, *PTEN*, *p38α*, днРНК *PINT*, *DINO* и *lncp21*.

В данном исследовании была проанализирована активность онкогенов и онкосупрессоров в различных органах мышей в динамике на 14-й и 22-й день после трансплантации мышам опухолевых клеток.

Акцент был сделан на изменении экспрессии генов *P53* и *NFκB* после второго и четвертого облучений (табл. 2).

**Таблица 2.** Изменение экспрессии генов P53 и NFkB в органах мышей после двух и четырех облучений МДР  
**Table 2.** Changes in the expression of P53 and NFkB genes in mice' organs after 2 and 4 exposures of low-doses radiation

Орган	Группа	Второе облучение		Четвертое облучение	
		<i>P53</i>	<i>NFkB</i>	<i>P53</i>	<i>NFkB</i>
Опухоль	Опухоль	—	—	—	—
	Опухоль + облучение	↓	↑	↑	↑
Костный мозг	Опухоль	↓	↓	↑*	↑*
	Опухоль + облучение	↓	↓	↑*	↑
Селезенка	Опухоль	↑	↑*	↑*	↓
	Опухоль + облучение	↑	↓	↑*	↓
Тимус	Опухоль	↑	↑	↓*	↑
	Опухоль + облучение	—	↓*	↑	↑

Примечание. (—) — нет изменений (медиана равна 1);

↑ — отмечается активация экспрессии;

↓ — отмечается подавление экспрессии;

\* — статистически значимое изменение ( $p < 0.05$ ).

В табл. 3 приведен анализ изменения активности онкогенов и онкосупрессоров в группе “Опухоль + облучение” по отношению к группе “Опухоль”, выраженных в долях медианы (принятой за единицу) в опухолевой ткани, костном мозге и тимусе мышей после четырех облучений (на 22-е сутки).

После этого нами были проанализированы процентные соотношения активированных онкогенов и онкосупрессоров в нормальных и опухолевых тканях.

На рис. 5 показано, что в опухолевых клетках количество активированных онкосупрессоров составляло 33.3% (активируется два из шести исследуемых онкосупрессоров), в то время как процент активированных онкогенов составляет 64.3% (девять из 14 показателей). В костном мозге отмечается активность 75% супрессоров (повышенная экспрессия генов *P53*, *PTEN* и днРНК *PINT* и *DINO*). Кроме того, в этой же группе активировался только онкоген (*TAL1*), что составляет 7% от числа исследуемых онкогенов. В тимусе была обнаружена инициация активности всех онкосупрессоров (100%) и лишь шести онкогенов (42%). Для селезенки характерна активация 50% онкосупрессоров и 21% онкогенов (рис. 5).

Особое внимание было уделено анализу экспрессии показателей в трансплантированных опухолях. Наиболее значимыми оказались изменения экспрессии онкогенов *CTCF* и днРНК *MALAT1*. Показано подавление активности гена *CTCF* и днРНК *MALAT1* в 4166 и 1.15 раза соответственно (рис. 6, а).

Однако в тимусе экспрессия днРНК *MALAT1* четко отличалась от экспрессии в костном мозге: повышалась в 3.04 раза в группе “Опухоль + облучение”, что говорит о чувствительности этого по-

казателя к действию МДР. В селезенке также отмечалось увеличение роста экспрессии днРНК *MALAT1* (в 1.19 раза) (рис. 7).

Было показано, что изменения экспрессии гена *CTCF* в нормальных органах коррелировали с изменениями в опухолях. В частности, подавление активности этого гена отмечается в селезенке и тимусе — в 1.45 и 25 раз соответственно ( $p < 0.05$ ), в отличие от костного мозга, где его активность выросла в 1.11 раза по сравнению с “Биоконтролем” (рис. 7).

На рис. 8 продемонстрированы изменения экспрессии гена *P53* и днРНК *PINT* в различных органах. Аналогичные изменения с клетками опухоли отмечались и в костном мозге у гена *P53*, активность которого увеличивалась одинаково в группах “Опухоль + облучение” и “Опухоль” в 1.23 раза по сравнению с “Биоконтролем”. Однако для днРНК *PINT*, также являющейся онкосупрессором, не отмечалось соответствующих опухолей изменений.

В частности, экспрессия днРНК *PINT* изменялась противоположным образом — и уменьшалась в 1.56 раза в клетках костного мозга. Аналогичное ингибирование активности этой днРНК наблюдалось и в других органах иммунной защиты — селезенке и тимусе: в 1.27 и 1.92 раза соответственно. В ряде работ также показана роль днРНК *PINT* как супрессора опухолей [15, 16].

На рис. 7 и 8 отмечены выраженные изменения экспрессии ряда показателей в клетках селезенки и тимуса. В частности, статистически значимо отличалась активность онкосупрессоров гена *PTEN* и днРНК *DINO*, а также онкогенов *TAL1*, *Cyclin E2* и микроРНК *miR-21* в группах “Опухоль+облучение” и “Опухоль” по сравнению с “Биоконтролем”, хотя соответствующих

**Таблица 3.** Оценка относительного изменения активности онкогенов и онкосупрессоров в группе “Опухоль + облучение” по отношению к группе “Опухоль” в опухолевой ткани, костном мозге, тимусе и селезенке мышей после четырех облучений

**Table 3.** Evaluation of the relative changes in the activity of oncogenes and suppressors in the “Tumor + radiation” group in relation to the “Tumor” group in the tumor tissue, bone marrow, thymus and spleen of mice after 4 irradiations

Показатели	Орган			
	опухолевые клетки	костный мозг	тимус	селезенка
Онкогены				
<i>NFkB(p50)</i>	1.58	0.87	0.52	0.79
<i>NFkB(p65)</i>	1.19	0.81	1.0	0.90
<i>TNFa</i>	1.15	0.93	0.78	1.0
<i>G-CSF</i>	1.24	0.89	0.72	1.19
<i>Cyclin E2</i>	0.71	0.84	<b>4.0*</b>	1.3
<i>IAP1</i>	1.13	1.0	0.76	1.0
<i>IAP2</i>	1.32	0.98	1.43	0.79
<i>IkBa</i>	1.42	0.96	0.76	0.87
<i>iNOS</i>	<b>1.94*</b>	0.73	0.33	0.95
<i>TAL1</i>	1.0	1.18	1.37	1.15
<i>CTCF</i>	<b>0.00024*</b>	0.93	<b>59.0*</b>	0.87
MALAT1	0.87	0.87	2.92	1.07
NEAT1	1.09	0.93	0.84	0.87
miR-21	0.93	0.9	<b>2.98*</b>	0.69
Онкосупрессоры				
<i>P53</i>	1.68	1.23	1.61	0.9
<i>PTEN</i>	0.92	1.04	2.77	0.96
<i>p38α</i>	0.76	0.93	2.25	1.03
PINT	1.34	1.31	<b>3.11*</b>	1.0
DINO	0.93	1.19	<b>2.97*</b>	1.15
lncp21	0.84	0.96	3.03	1.19

\* Статистически значимые изменения ( $p < 0.05$ ) по критерию Манна–Уитни.

изменений не наблюдалось в опухолевых тканях. Это может быть связано с ответом клеток на облучение и активацию сигнальных путей при воздействии МДР, а также стимуляцией репарационных процессов.

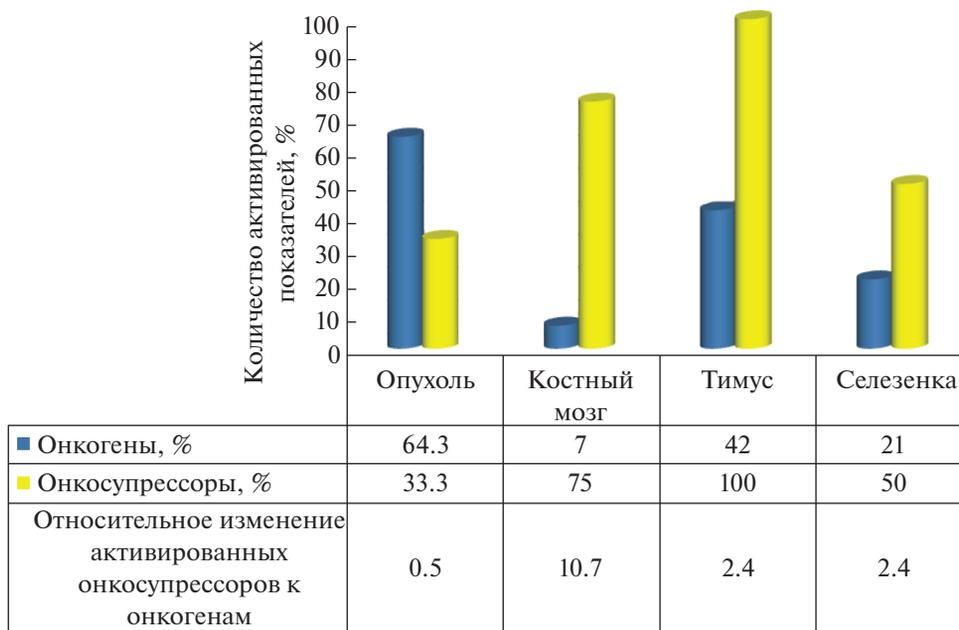
На рис. 6, б показано, что в опухолевых тканях отмечалась только тенденция к снижению активности гена *PTEN* ( $p < 0.1$ ), в то же время в селезенке (рис. 8) фиксируется статистически значимое подавление экспрессии гена *PTEN* в 1.37 раза в группе “Опухоль+облучение” ( $p < 0.05$ ).

Интересно, что аналогичная динамика характерна для днРНК DINO: тогда как в опухоли (рис. 6, б) практически не отмечалось понижения экспрессии этой днРНК (изменение в 1.078 раза), в селезенке и тимусе наблюдалось значительное ингибирование ее активности – 1.37 и 2.13 раза ( $p < 0.05$ ) (рис. 8). По данным [17], активность днРНК DINO в клетках при различных типах рака также подавляется.

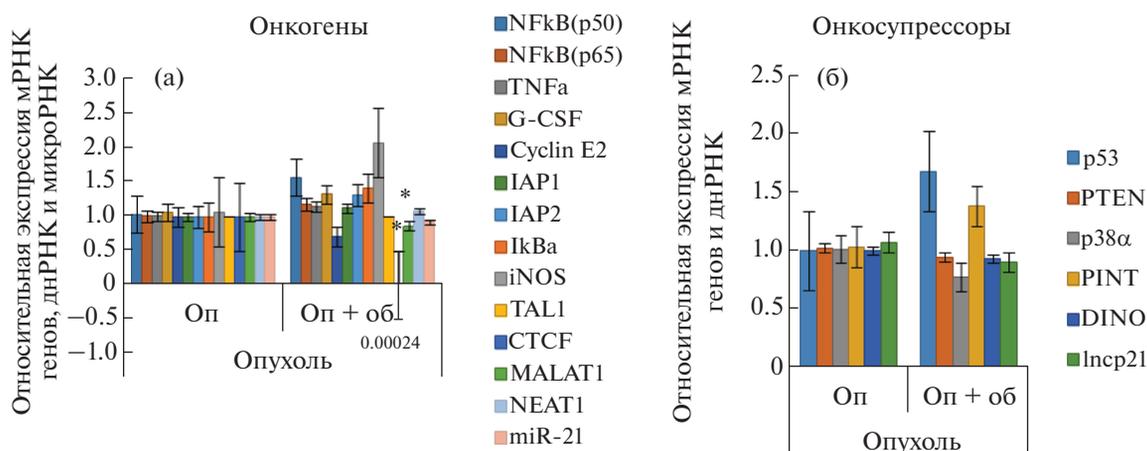
Также показано ингибирование активности гена *CCNDE2* в селезенке и тимусе, которая ниже в 1.79 и 2.38 раза соответственно, в группе “Опухоль” по отношению к группе “Биоконтроль”, а также снижение активности этого гена в 4 раза в тимусе в группе “Опухоль” по сравнению с группой “Опухоль + облучение” (рис. 7).

Нами продемонстрировано, что онкоген *TAL1*, экспрессия которого, как можно было предполагать, должна возрастать, показал себя абсолютно противоположным образом (рис. 7). И в селезенке, и в тимусе в группах “Опухоль” его активность снижалась в 1.37 и 2.04 раза соответственно ( $p < 0.05$ ).

Отмечено увеличение активности гена *NFkB(p50)* в клетках костного мозга и тимуса в 1.19 ( $p < 0.05$ ) и 2.14 раза ( $p > 0.05$ ), что подтверждает гипотезу о взаимодействии генов *TAL1* и *NFkB*. Кроме того, показана значительная роль микроРНК miR-21, активность которой значительно подавлена в се-



**Рис. 5.** Процент активированных онкогенов и онкосупрессоров в различных органах мышей в ответ на действие МДР.  
**Fig. 5.** The percentage of activated oncogenes and suppressors in various organs of mice in response to low-doses radiation.



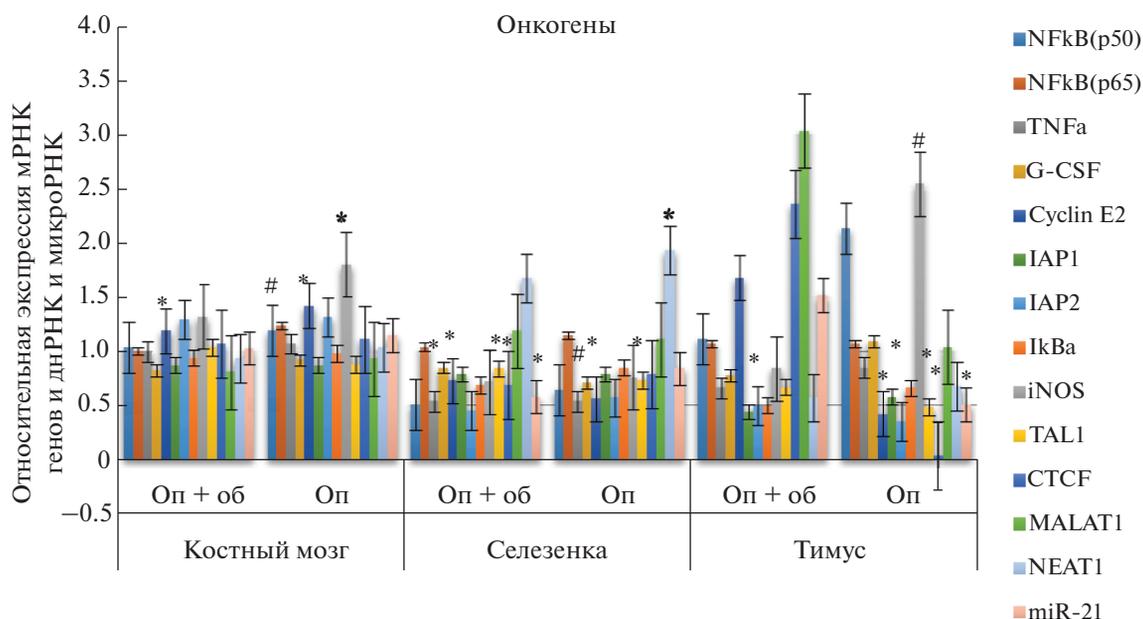
**Рис. 6.** Относительная активность онкогенов и онкосупрессоров в опухолевых тканях инокулированных мышей после четырех фракционированных облучений.  
 \* Статистически значимые изменения ( $p < 0.05$ ) по критерию Манна–Уитни. Медиана группы “опухолей” принята за единицу.  
**Fig. 6.** Comparative activity of oncogenes and suppressors in mice’ tumor tissues after 4 fractionated irradiations.  
 \* Statistically significant statistical changes ( $p < 0.05$ ) according to the Mann–Whitney  $U$ -test, the median of the group of “tumors” is taken as one.

лезенке и тимусе в 1.37 (группа “Опухоль + облучение”) и 2.13 раза (группа “Опухоль”) соответственно (рис. 7).

### ОБСУЖДЕНИЕ

Изменения активности генов и некодирующих РНК в разных органах мышей при действии облучения связано с различиями в их чувстви-

тельности к этому воздействию [18]. Действие МДР контролирует и активирует иммунную систему, индуцированную, в том числе, оксидативным стрессом в периферических органах, каждый из которых имеет свой специфический ответ и может служить в ряде случаев биологическим маркером. В ответе иммунной системы на воздействие МДР особую роль играют клетки костного мозга, в которых отмечались повышение ге-



**Рис. 7.** Относительная активность онкогенов в костном мозге, селезенке и тимусе в группах “Опухоль + облучение” и “опухоль” инокулированных мышей после четырех фракционированных облучений.

\* Статистически значимые изменения ( $p < 0.05$ ) по критерию Манна–Уитни;

# статистически значимые изменения ( $p < 0.1$ ) по критерию Манна–Уитни.

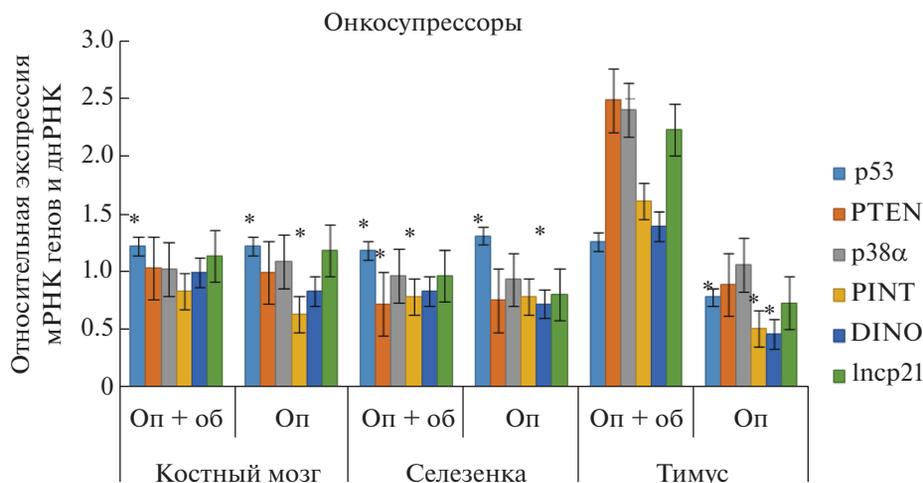
Относительная экспрессия в группах “Опухоль + облучение” и “опухоль” соотносится к медиане группы “биоконтроль”, принятой за единицу.

**Fig. 7.** Comparative activity of oncogenes in bone marrow, spleen, and thymus in the “Tumor + irradiation” and “tumor” groups of mice after 4 fractionated irradiations.

\* Statistically significant statistical changes ( $p < 0.05$ ) according to the Mann–Whitney  $U$ -test;

# statistically significant changes ( $p < 0.1$ ) according to the Mann–Whitney  $U$ -test.

The relative expression in the “Tumor + radiation” and “tumor” groups corresponds to the median of the “Control” group, taken as one.



**Рис. 8.** Относительная активность онкосупрессоров в костном мозге, селезенке и тимусе в группах “Опухоль+облучение” и “опухоль” инокулированных мышей после четырех фракционированных облучений.

\* Статистически значимые изменения ( $p < 0.05$ ) по критерию Манна–Уитни.

Относительная экспрессия в группах “Опухоль + облучение” и “опухоль” соотносится к медиане группы “биоконтроль”, принятой за единицу.

**Fig. 8.** Comparative activity of suppressors in the bone marrow, spleen, and thymus in the “Tumor + irradiation” and “tumor” groups of mice after 4 fractionated irradiations.

\* Statistically significant statistical changes ( $p < 0.05$ ) according to the Mann–Whitney  $U$ -test.

The relative expression in the “Tumor + radiation” and “tumor” groups corresponds to the median of the “Control” group, taken as one.

матопоэза, увеличение секреции различных цитокинов [19]. Действие МДР активировало Т-клетки, повышая продукцию  $IFN\gamma$  [20]. Тем временем в В-клетках индуцировалась экспрессия микроРНК (*let-7a*, *miR-15b*, *miR-16*, *miR-21*, *miR-23b*), связанных с липидным ферментом глицерол-3-фосфат ацилтрансферазой [21]. Наиболее высокой чувствительностью к действию ионизирующего излучения в малой дозе отличались клетки селезенки по сравнению, например, с костным мозгом, печенью, легкими и тестикулами [18, 19].

В табл. 3 показано, что экспрессия генов менялась неодинаково. После фракционированного облучения в дозе 150 мГр (два облучения) в опухолях, костном мозге и крови происходило подавление активности гена *P53*. В то же время в селезенке и тимусе система *P53* стабильности генома активировалась. Это указывает на то, что в клетках разных органов мышей ответ на 2-кратное облучение в МДР был неодинаковым. После фракционированного облучения в дозе 300 мГр (четыре облучения), экспрессия гена *P53* активировалась, что сопровождалось уменьшением роста опухоли.

Что касается другой исследованной системы, можно отметить, что в ответ на облучение в дозе 150 мГр наблюдается активация гена *NFkB* в опухоли (табл. 3).

Установлено, что под воздействием МДР в нормальных лимфоцитах активировалась система *P53* поддержания стабильности генома и ингибировалась система *NFkB*. С другой стороны, в опухолевых клетках линии *Jurkat* не отмечалось активации *P53*-системы, в то время как *NFkB*-система инициировалась [14].

Из табл. 3 видна тенденция к подавлению *P53* и активации *NFkB* систем после второго облучения в опухолевой ткани. В нормальной ткани (селезенке) отмечалась противоположная корреляция (увеличение экспрессии *P53* и подавление *NFkB*). На 22-е сутки после трансплантации опухолевых клеток в опухолевой ткани отмечались эффект активации защитной системы (*P53*) и подавление системы с противоположным ей эффектом (*NFkB*). Эти результаты положительно коррелируют с полученными нами ранее данными.

Таким образом, полученные данные о разнонаправленности экспрессии онкогенов и онкосупрессоров подтверждают наши предыдущие исследования, проведенные на нормальных лимфоцитах и Т-лимфобластных клеточных линиях, в которых показаны формирование адаптивного ответа в нормальных клетках и его отсутствие в злокачественных [3, 14]. Из диаграммы на рис. 5 видно, что адаптивный ответ не формировался в опухолевых клетках, это коррелировало с соотношением активированных супрессоров к онкогенам (0.51). Процентное соотношение активирован-

ных супрессоров к онкогенам в костном мозге и тимусе, составляющие 10.7 и 2.4 соответственно.

Известен ряд онкосупрессоров, среди которых наиболее изученными и важными являются гены *P53* и *PTEN*. Они выступают основными факторами в функционировании многих клеточных сигнальных путей и объединяются для содействия устранения аномальных клеток, образующихся в ответ на стрессовые воздействия, в частности на ионизирующее излучения, являясь основным механизмом клеточного гомеостаза.

Ответом на клеточные стрессы и индуцированные повреждения ДНК является повышение уровня экспрессии гена *P53*, что приводит к процессам остановки клеточного цикла, репликации и репарации ДНК или апоптозу. Таким образом, можно полагать, что *P53* имеет решающее значение в ингибировании деления злокачественных раковых клеток [22].

Известно, что различные микроРНК могут регулировать *NFkB* патологический путь. Так, например, *miR-21* и *miR-26b* усиливают экспрессию гена *NFkB* за счет подавления активности *PTEN* по механизму положительной обратной связи [23].

В работе по изучению воздействия *miR-21* на потенциальные мишени был обнаружен сайт связывания на гене *PTEN*, что свидетельствует о том, что последний является мишенью микроРНК *miR-21* [24]. Клеточная пролиферация может активироваться за счет активации мишеней *miR-21*, что может способствовать клеточной пролиферации, инвазии, развитию метастазов и ингибированию процессов апоптоза [25].

Таким образом, воздействие МДР оказывало выраженное влияние на рост опухоли, активность генов и некодирующих РНК в различных органах и тканях мышей, инокулированных опухолевыми клетками. Динамика опухолеобразования при действии МДР у мышей была различной, при этом уменьшение размеров опухолей при МДР коррелировало с изменением соотношения онкогенов и онкосупрессоров. Оказалось, что в опухоли большинство исследованных онкогенов активировались чаще, чем представители онкосупрессоров, а именно девять из 14 для первой группы и (*NFkB(p50)*, *NFkB(p65)*, *TNF $\alpha$* , *G-CSF*, *IAP1*, *IAP2*, *Ikb $\alpha$* , *iNOS*, *NEAT1*) и два из шести — для второй (*P53*, *PINT*), так что соотношение активируемых продуктов онкогенов и онкосупрессоров составило 0.51. Аналогичный подход к ответу на воздействие радиации здоровых тканей облученного в малой дозе организма дал, напротив, преимущественную активизацию онкосупрессоров по отношению к онкогенам (10.7; 2.4 и 2.4 соответственно для костного мозга, тимуса и селезенки).

Механизм действия МДР связывают с рядом событий, которые индуцируются этим воздей-

ствием: активацией иммуногенеза, повышением экспрессии цитокиновых рецепторов, факторов роста в моноцитах крови, продукцией антиоксидантов, изменением активности макрофагов и т.д. [18, 26–28]. Следовательно, на основании литературных и собственных данных можно предположить перспективность использования биомаркеров при действии МДР в процессе опухолеобразования, имея в виду активность онкогенов и онкосупрессоров. Применение воздействия фракционированного облучения на все тело в малой дозе выявило выраженную тенденцию к уменьшению размеров опухоли. Эти данные могут быть использованы как подход к терапии опухолей, когда уменьшенный объем опухоли может быть показателем для использования меньших доз при радиотерапии.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена на базе ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна при финансовой поддержке программы развития ядерной медицины “АО Наука и инновация” ГК Росатом и по теме Института общей генетики им Н.И. Вавилова РАН (госзадание № 0112-2019-0002).

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Kim J.M., Kim H.G., Son Ch.G.* Tissue-Specific Profiling of Oxidative Stress-Associated Transcriptome in a Healthy Mouse Model // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 19. № 10. P. 3174–3182. <https://doi.org/10.3390/ijms19103174>
2. *Nemec-Bakk A.S., Niccoli S., Davidson C., et al.* Lasting Effects of Low to Non-Lethal Radiation Exposure during Late Gestation on Offspring’s Cardiac Metabolism and Oxidative Stress // *Antioxidants (Basel)*. 2021. V. 10. № 5. P. 816.
3. *Михайлов В.Ф., Засухина Г.Д.* Новый подход к стимуляции защитных систем организма малыми дозами радиации // *Успехи совр. биологии*. 2020. Т. 140. № 3. С. 244–252. [*Mikhailov V.F., Zasukhina G.D.* Novyi podkhod k stimulyatsii zashchitnykh sistem organizma malymi dozami radiatsii // *Uspekhi sovremennoi biologii*. 2020. V. 140. № 3. P. 244–252. (In Russ.)] <https://doi.org/10.31857/S0042132420030060>
4. *Kojima S., Tsukimoto M., Shimura N. et al.* Treatment of Cancer and Inflammation With Low-Dose Ionizing Radiation: Three Case Reports // *Dose Response*. 2017. V. 15. № 1. P. 1559325817697531. <https://doi.org/10.1177/1559325817697531>
5. *Large M., Hehlhans S., Reichert S. et al.* Study of the anti-inflammatory effects of low-dose radiation: The contribution of biphasic regulation of the antioxidative system in endothelial cells // *Strahlenther Onkol*. 2015. V. 191. № 9. P. 742–749. <https://doi.org/10.1007/s00066-015-0848-9>
6. *Chen Y., Cui J., Gong Y. et al.* MicroRNA: a novel implication for damage and protection against ionizing radiation // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2021. V. 28. № 13. P. 15584–15596. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12509-5>
7. *Chong Z.X., Yeap S.K., Ho W.Y.* Role of miRNAs in regulating responses to radiotherapy in human breast cancer // *Int. J. Radiat. Biol.* 2021. V. 97. № 3. P. 289–301. <https://doi.org/10.1080/09553002.2021.1864048>
8. *Tang L., Matsushita H., Jingu K.* Controversial issues in radiotherapy after breast-conserving surgery for early breast cancer in older patients: a systematic review // *J. Radiat. Res.* 2018. V. 59. № 6. P. 789–793. <https://doi.org/10.1093/jrr/rry071>
9. *Yang B., Kuai F., Chen Z. et al.* miR-634 decreases the radioresistance of human breast cancer cells by targeting STAT3 // *Cancer Biother. Radiopharm.* 2020. V. 35. № 3. P. 241–248. <https://doi.org/10.1089/cbr.2019.3220>
10. *Livak K., Schmittgen T.* Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2<sup>-ΔΔCT</sup> Method // *Methods*. 2001. V. 25. № 4. P. 402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
11. STATISTICA 7.0, 2017.
12. *Calabrese E.J.* Low doses of radiation can enhance insect lifespans // *Biogerontol.* 2013. V. 14. № 4. P. 365–381. <https://doi.org/10.1007/s10522-013-9436-5>
13. *Hong J., Han K., Jung J., Kim J.* Association of Exposure to Diagnostic Low-Dose Ionizing Radiation With Risk of Cancer Among Youths in South Korea // *JAMA Netw. Open*. 2019. V. 2. № 9. P. e1910584. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2019.10584>
14. *Михайлов В.Ф., Шуленина Л.В., Раева Н.Ф. и др.* Влияние малых доз ионизирующей радиации на экспрессию генов и некодирующих РНК в нормальных и злокачественных клетках человека // *Цитология*. 2019. Т. 61. № 6. С. 427–438. [*Mikhailov V.F., Shulenina L.V., Raeva N.F. et al.* The effect of low doses of ionizing radiation on the expression of genes and non-coding RNA in normal and malignant human cells // *Cell and Tissue Biology*. 2019. V. 13. № 6. P. 423–433.] <https://doi.org/10.1134/S0041377119060051>
15. *Marin-Bejar O., Marchese F.P., Athie A. et al.* Pint lincRNA connects the p53 pathway with epigenetic silencing by the Polycomb repressive complex 2 // *Genome Biol.* 2013. V. 14. № 9. P. R104. <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-9-r104>
16. *Feng H., Zhang J., Shi Y.* Long noncoding RNA LINC-PINT is inhibited in gastric cancer and predicts poor survival // *Cell Biochem.* 2019. V. 120. № 6. P. 9594–9600. <https://doi.org/10.1002/jcb.28236>
17. *Schmitt A.M., Garcia J.T., Hung T. et al.* An inducible long noncoding RNA amplifies DNA damage signaling // *Nat. Genet.* 2016. V. 48. № 11. P. 1370–1376. <https://doi.org/10.1038/ng.3673>

18. *Shin E., Lee S., Kang H. et al.* Organ-Specific Effects of Low Dose Radiation Exposure: A Comprehensive Review // *Front. Genet.* 2020. V. 11. P. 566244. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.566244>
19. *Song K.-H., Kim M.-H., Kang S.-M. et al.* Analysis of immune cell populations and cytokine profiles in murine splenocytes exposed to whole-body low-dose irradiation // *Int. J. Radiat. Biol.* 2015. V. 91. №10. P. 795–803. <https://doi.org/10.3109/09553002.2015.1068461>
20. *Chen Y., Wang Ch., He M. et al.* Effect of low dose heavy ion irradiation on subset percentage and cytokines expression of peripheral blood lymphocytes in patients with pancreatic cancer // *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* 2014. V. 36. № 6. P. 435–439. [Article in Chinese] <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2014.06.007>
21. *Tabe Y., Hatanaka Y., Nakashiro M. et al.* Integrative genomic and proteomic analyses identifies glycerol-3-phosphate acyltransferase as a target of low-dose ionizing radiation in EBV infected-B cells // *Int. J. Radiat. Biol.* 2016. V. 92. № 1. P. 24–34. <https://doi.org/10.3109/09553002.2015.1106021>
22. *Sun Y., Binh N., Lori A., et al.* Functional Analysis of the p53 Pathway in Response to Ionizing Radiation in Uveal Melanoma // *Investig. Ophthalmol. & Visual Sci.* 2005. V. 46. № 5. P. 1561–1564. <https://doi.org/10.1167/iovs.04-1362>
23. *Zhang L., Huang C.* MicroRNA-26b Modulates the NF- $\kappa$ B Pathway in Alveolar Macrophages by Regulating PTEN // *J. Immunol.* 2015. V. 195. № 11. P. 5404–5414. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1402933>
24. *Liu H.-Y., Zhang Y.-Y., Zhu B.-L. et al.* miR-21 regulates the proliferation and apoptosis of ovarian cancer cells through PTEN/PI3K/AKT // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2019. V. 23. № 10. P. 4149–4155. [https://doi.org/10.26355/eurev\\_201905\\_17917](https://doi.org/10.26355/eurev_201905_17917)
25. *Bautista D., Arriaga C., Pedroza-Torres A. et al.* The Promising Role of miR-21 as a Cancer Biomarker and Its Importance in RNA-Based Therapeutics // *Mol. Ther. Nucleic Acids.* 2020. V. 20. P. 409–420. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2020.03.003>
26. *Prakash H., Klug F., Nadella V. et al.* Low doses of gamma irradiation potentially modifies immunosuppressive tumor microenvironment by retuning tumor-associated macrophages: lesson from insulinoma // *Carcinogenesis.* 2016. V. 37. № 3. P. 301–313. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgw007>
27. *Pavlopoulou A., Bagos P.G., Koutsandrea V., Georgakilas A. G.* Molecular determinants of radiosensitivity in normal and tumor tissue: A bioinformatic approach // *Cancer Lett.* 2017. V. 403. P. 37–47. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2017.05.023>
28. *Guo T., Zou L., Ni J. et al.* Radiotherapy for unresectable locally advanced non-small cell lung cancer: a narrative review of the current landscape and future prospects in the era of immunotherapy // *Transl. Lung. Cancer Res.* 2020. V. 9. № 5. P. 2097–2112. <https://doi.org/10.21037/tlcr-20-511>

## The Connection Between the Growth Dynamics of Transplanted Lewis Carcinoma in Mice and Changes in the Activity of Genes and Non-Coding RNAs after Low-Dose Irradiation

**V. F. Mikhailov<sup>a</sup>, D. V. Saleeva<sup>a, #</sup>, L. V. Shulenina<sup>a</sup>, N. F. Raeva<sup>a</sup>,  
L. M. Rozhdestvensky<sup>a</sup>, and G. D. Zasukhina<sup>a, b</sup>**

<sup>a</sup>State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

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

<sup>#</sup>E-mail: [dasha\\_saleeva@inbox.ru](mailto:dasha_saleeva@inbox.ru)

The effect of low-dose radiation was studied on the growth dynamics of transfused Lewis carcinoma cells in female C57Bl/6 mice. Four-fold total fractionated irradiation was performed at a dose of 75 mGy (at a dose rate 0.154 Gy/min and a voltage of 200 kV), starting from 10 days after transplantation with a four-day interval. On 14 and 22 days, a group of mice was euthanized to study the expression levels of genes and non-coding RNAs (microRNAs and long non-coding RNAs) in tumor cells, as well as in normal tissues (bone marrow, liver, spleen). Total RNA was obtained and complementary DNA was synthesized according to the manufacturer's protocol. After that, a real-time PCR reaction was performed using a SYBR Green I dye (Thermo Scientific, USA) or a TaqMan probe and specific primers. Genes and non-coding RNAs were divided into groups oncogenes and oncosuppressors according to scientific researches. In the group of irradiated mice, a decrease in the tumor growth rate was observed, mainly from the 20th day, accompanied by a change in the activity of the studied genes. The ratio of oncosuppressors' activity to oncogenes was calculated for the obtained tissues. These fractions were 0.5 for the tumor, 10.7 for the bone marrow, and 2.4 for the spleen and thymus. Thus, it can be stated that in the tumor there was a particularly pronounced activation of oncogenes compared to the activity of oncosuppressors, while the opposite effect was observed in normal tissues.

**Keywords:** low-dose radiation, Lewis lung carcinoma, genes, non-coding RNA, oncogenes, oncosuppressors, P53, NF $\kappa$ B

## МОДИФИКАЦИЯ РАДИАЦИОННЫХ ЭФФЕКТОВ

УДК 615:616-03:539.1.047

### ВОПРОСЫ ОРГАНИЗАЦИИ РАЗРАБОТОК ПРОТИВОЛУЧЕВЫХ СРЕДСТВ В РОССИИ В АСПЕКТЕ МЕДИКАМЕНТОЗНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАДИАЦИОННЫХ ИНЦИДЕНТАХ

© 2022 г. Л. М. Рождественский<sup>1,\*</sup>, Н. А. Богданенко<sup>1</sup>, Е. В. Ильченко<sup>1</sup>, Д. В. Гурьев<sup>1,2</sup>,  
Ю. А. Федотов<sup>1,2</sup>, А. Н. Осипов<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>ГНЦ Федеральный медицинский и биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия

<sup>2</sup>ФИЦ химической физики им. Н.Н. Семёнова РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup>Московский физико-технический институт, Москва, Россия

\*E-mail: lemrod@mail.ru

Поступила в редакцию 13.07.2021 г.

После доработки 28.10.2021 г.

Принята к публикации 09.11.2021 г.

Кратко рассмотрена в историческом аспекте организация в России разработок противолучевых средств (ПЛС) для раннего применения при радиационных инцидентах. Отмечены важная роль сотрудничества разных научных центров в создании двух основных медицинских противолучевых препаратов (Б-190/индралина и беталейкина) в период до аварии на ЧАЭС и постепенное снижение интенсивности разработок ПЛС во всех ведущих центрах в нулевые и десятые годы 21-го века. Кризис в разработке ПЛС связан с ослаблением государственного менеджмента в этом важном научном направлении, с кампанией консервации гамма-облучательской базы, с уменьшением исследовательских центров, с отставанием в развитии научно-исследовательской инфраструктуры (виварии, питомники экспериментальных животных, приборное оснащение). Серьезные трудности возникли на путях проведения клинических испытаний ПЛС в связи с изменением требований к их проведению. Для преодоления кризиса в разработках ПЛС необходимо, прежде всего, усилить ведомственный менеджмент (со стороны ФМБА России, РАН, Минздрава России). Задачей этого менеджмента более высокого, чем отдельные институты и центры, уровня должны стать восстановление и развитие научно-исследовательской инфраструктуры подведомственных им научных организаций. Необходимо также разработать новые методические указания доклинических исследований, нацеленных на выявление биомаркеров повышенной под влиянием ПЛС радиорезистентности или ускоренного пострадиационного восстановления. Эти биомаркеры (фармакологические эффекты) необходимы на 2-й стадии клинических испытаний для оценки без радиационного воздействия возможной эффективности испытуемого препарата в рекомендуемой для человека дозе.

**Ключевые слова:** радиационная безопасность, противолучевые средства, биомаркеры повышенной радиорезистентности, беталейкин, индралин

DOI: 10.31857/S0869803122010131

Разработка противолучевых средств (ПЛС) в период становления отечественной радиобиологии была одним из основных направлений радиобиологических исследований. Не последнюю роль в этом сыграл созданный вскоре после окончания ВОВ Центр медико-биологического обеспечения атомной промышленности в виде 3-го Главного Управления Минздрава СССР и подведомственного ему Института биофизики (ИБФ МЗ СССР). В последний к тому же были привлечены крупнейшие ученые из разных областей науки, что наряду с достойной приборной оснащенностью весьма способствовало его популярности и притоку молодых специалистов. Все это привело к тому, что указанная структура быстро выдвину-

лась на лидирующие позиции в разработке противолучевых препаратов, предназначенных для борьбы с тяжелыми радиационными поражениями при радиационных инцидентах военного и аварийно-производственного характера. Была создана целая линейка препаратов для ускоренного выведения попавших в организм радионуклидов, появились индивидуальные противорадиационные аптечки. Но наибольший успех проявился в разработке препаратов РС-10 и РС-11, показавших экстраординарный результат на облученных в больших дозах собаках [1]. Правда, эти препараты оказались слишком токсичными для человека, но вслед за ними последовали близкие по механизму действия высокомолекулярные

препараты разной природы, среди которых постепенно выделился генноинженерный аналог человеческого цитокина ИЛ-1 под названием Беталейкин [2–6]. Он был доведен до статуса медицинского препарата, к тому же с возможностью применения не только в радиационной медицине, но и в широкой медицинской практике как иммуномодулятор и гемостимулятор. В это же время был разработан радиопротектор Б-190/индралин, ставший табельным средством противолучевой защиты в гражданской обороне и в армии [7, 8]. В обоих случаях в разработке участвовали разные научные центры (при лидирующей роли ГосНИИ ОЧБ, СПб. и ИБФ МЗ СССР).

К сожалению, к моменту Чернобыльской аварии в качестве медицинского препарата существовал только Б-190, он имелся на ЧАЭС, но в силу организационных просчетов оказался недоступен медикам и не был применен для медикаментозной защиты пожарных, направлявшихся в зоны с высоким уровнем радиации. Точно также из-за низкой подготовленности служб гражданской обороны и местной медицинской сети была плохо проведена разработанная специалистами Института биофизики йодная профилактика попавшего в организм жителей, особенно детей, радиоактивного йода. Правда, на высоте оказались медики клинического отдела ИБФ МЗ СССР, боровшиеся в сотрудничестве с персоналом 6-й Клинической больницы за жизнь тяжело облученных пожарных и сумевшие некоторых из них спасти [9, 10].

Постепенно, однако, отношение к обеспечению радиационной безопасности в условиях непрогнозируемых инцидентов стало меняться. В 2000–2010 гг. стали консервировать и демонтировать гамма-облучатели в научных центрах, что было равносильно лишению ученых важнейшего оборудования. Потом стали перепрофилировать радиобиологические лаборатории, сокращать базу разработок и наработок противолучевых средств (закрытие отдела разработок ПЛС в ФГУП НПЦ “Фармзащита” ФМБА России). Стало весьма затруднительным вести совершенствование известных и разработку новых ПЛС в связи с дефицитом экспериментальных животных из-за их дороговизны (мыши) или отсутствием питомников их разведения (собаки), с резким сужением предложения новых препаратов. Особенно знаменательной стала приостановка производства на базе ФГУП “ГосНИИ особо чистых биопрепаратов” ФМБА России основного средства экстренной противолучевой терапии Беталейкина. Это произошло по предписанию лицензионной комиссии Минпромторга с требованием модернизации производственного цеха на сумму порядка 150 млн руб., которой у производителя конечно же не было. Препарат перестал поступать в аптеки, научные лаборатории, подразделе-

ния быстрого реагирования на возможный радиационный инцидент. Реакции на происходящее со стороны ФМБА России, отвечающего за поддержание радиационной безопасности, не последовало.

Таким образом, за весьма короткий срок некогда достаточно успешно развивавшаяся и конкурировавшая с зарубежными центрами область разработок ПЛС в России пришла в состояние крайнего упадка, что для страны с мощным атомным производством совершенно неприемлемо. В первую очередь, требуется анализ причин всего произошедшего, а во вторую – создание целевой программы восстановления важного научного направления.

Одной из основных, если не самой важной, причин произошедшего кризиса стало ослабление менеджмента указанными работами, снижение государственной поддержки. В условиях, когда разработка ПЛС стала чуть ли не частным делом отдельных лабораторий, первые же трудности с финансированием привели к тому, что эти исследования были отодвинуты на обочину. Ведомственные руководители просто проигнорировали Указ Президента РФ от 13.10.2018 № 585 “Об утверждении Основ государственной политики в области обеспечения ядерной и радиационной безопасности Российской Федерации ...”, в котором прямо говорилось о “производстве лекарственных препаратов для фармакологической защиты работников...” атомных производств, использовавшихся как раз уже упомянутым ослаблением контроля вышестоящих организаций.

Другая причина создавшегося положения заключается в том, что разработка ПЛС в России не стала предметом интереса крупных фармацевтических компаний (как за рубежом), которые могли бы компенсировать издержки наподобие той, что произошла с Беталейкином. Но ведь в столь же уязвимом положении находятся разработки препаратов Т1023 в МРНЦ им. А.Ф. Цыба и флагеллина, создаваемого на базе “ГосНИИ ОЧБ” ФМБА России и ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России. На них нет госзаказа. Какой контраст с США, где под мониторингом государственного Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) находится порядка трех десятков противолучевых препаратов. В России же осталось всего две-три лаборатории, пытающиеся разрабатывать приблизительно такое же число новых ПЛС.

Здесь вполне обоснованной является мысль о том, не принято ли решение о сворачивании собственных разработок ПЛС в России в силу то ли неверия в потенциал отечественных специалистов, то ли в возможности фармакологической защиты от радиации вообще. Ведь и явно централизованная кампания по консервации гамма-

установок для радиобиологических исследований наводит на ту же мысль. Эту проблему тем более не решить без вмешательства государства. Вопрос стоит следующим образом: либо государство возвращается к реальному менеджменту в сфере разработок ПЛС, либо нет, и тогда это направление исследований фактически останавливается в своем развитии на неопределенное время. Если же все-таки возобладает государственный подход к указанной проблеме, то с точки зрения выбора ведущего центра управления разработкой ПЛС среди различных ведомств наиболее подходящим остается ФМБА России, так как именно в его сфере находятся структуры с наибольшим опытом работы в этой области. То обстоятельство, что в ФМБА России практически полностью обновился управленческий штат, возможно, инициирует деятельность нового руководства во главе с В.И. Скворцовой по назревшему реформированию организации разработок ПЛС.

В свете всего вышесказанного представляет особый интерес начатая в ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна кампания по аккредитации в системе Росаккредитации направления разработок ПЛС, которая может вывести эти исследования на новый уровень. Вообще, аккредитация любого направления исследований предполагает усиление внешнего контроля за тщательным соблюдением принципов надлежащей лабораторной практики по соответствующему ГОСТ'у с целью обеспечения высокого качества разрабатываемого продукта. Применительно к аккредитации разработок ПЛС это может означать намерение руководства ФМБЦ им. А.И. Бурназяна организовать исследование выбранного препарата вплоть до его клинического испытания и создания медицинского препарата. Для успешного осуществления этой акции необходима реанимация приборной базы исследований (модернизация и приобретение современных средств измерений утвержденного типа, уникальных вспомогательных средств), разработка комплекта нормативных и методических документов, регламентирующих процессы исследований и испытаний, создание аттестованных (валидированных) методик измерений с установленными нормами погрешности и неопределенности, документированные процедуры внутреннего контроля качества исследований по обеспечению достоверности и прослеживаемости измерений. Аккредитация указанного направления будет стимулом для обязательного соблюдения всех требований, предъявляемых как к самому процессу исследования и испытания ПЛС, так и к условиям его выполнения. Наличие аттестата аккредитации на эти работы позволит проводить совместные работы с другими аккредитованными в этом направлении лабораториями, в том числе передавать часть работ на аутсорсинг. Так как аккредитация направления

разработки противолучевого средства подразумевает постоянный контроль за качеством производимого препарата, то она была бы наиболее оправданной для контроля качества препарата, производимого по промышленной технологии, например, контроль качества уже выпускаемого препарата Б-190.

Повышение уровня исследования ПЛС в связи с получением аккредитации этих исследований в свою очередь потребует повышения уровня их организации в целом. Дело в том, что в настоящее время преобладает слишком ограниченный подход, не имеющий перспективы получения медицинского препарата. Радиобиологические лаборатории оценивают в опытах на различных биологических объектах (от клеточных культур до преимущественно мелких лабораторных животных) токсичность и эффективность исследуемых препаратов и фактически считают на этом свою задачу выполненной. Клинические испытания даже в случае перспективных препаратов крайне редки и практически ограничиваются оценкой допустимых доз для человека. Теперь этого недостаточно. Необходимо стремиться к тому, чтобы довести перспективный протопрепарат до уровня медицинского лекарственного средства, желательно двойного назначения (т.е. имеющего сферу применения в области не только радиационной медицины, но и общемедицинской практики с куда более массовым спросом), ибо только это обеспечивает высокую значимость таких исследований и рентабельность/надежность производства ПЛС. Для реализации такой амбициозной задачи необходимо провести клинические испытания, которые для ПЛС в силу относительной редкости радиационных поражений и невозможности проведения требуемых исследований на пациентах с такими же поражениями (понятно, что облучать испытуемого нельзя) представляют особую трудность. Приходится прибегать к экстраполяции данных с облученных животных, но единого обоснованного способа такой экстраполяции нет, и поэтому возможность серьезной ошибки в расчетах не исключена.

Это привело к разработке особого, индикационного метода, основанного на оценке повышенной устойчивости к облучению и/или способности к ускоренному восстановлению после введения ПЛС в необлученный организм. Эта оценка производится с помощью различных показателей биохимического, биофизического, цитологического и любого иного характера, изменение которых под влиянием ПЛС коррелирует в эксперименте на животных с противолучевым эффектом, а у человека осуществляется уже без радиационного воздействия [11, 12]. Такие иницируемые ПЛС сдвиги в специально отобранных показателях получили вначале наименование индикаторов [11], а затем биомаркеров повышенной ра-

диорезистентности (БМПР) при введении средства до облучения. Если же испытуемое средство эффективно при введении после облучения, то речь идет о выявлении биомаркера ускоренного восстановления (БМУВ).

Индикационный подход исходит из положения о фармакологической природе противолучевого действия разных веществ эндогенной и экзогенной природы [13, 14]. При введении практически любого вещества (в определенных дозах, конечно) в организм он отвечает реакцией, иницируемой рецепторной структурой для этого вещества, будь то специфический клеточный рецептор (например, адренорецепторы, цитокиновые и толл-подобные рецепторы) или какие-то иные структуры (например, синтаза NO для некоторых производных тиомочевины или смешанные дисульфиды белка с глутатионом для тиолсодержащих ПЛС). Рецепторная структура передает сигнал дальше вплоть до реализации состояния повышенной радиорезистентности или активизации процессов ускоренного постлучевого восстановления.

Этот метод связан с установлением цепи передачи сигнала от рецепторной структуры до эффектора(ов), реализующего(их) противолучевой эффект. Различные показатели такой цепи, наиболее удобные для оценки на человеке, могут быть использованы как биомаркеры. Каждый из них должен быть охарактеризован строго количественно с позиций его специфичности и чувствительности (наподобие того, как это осуществляется для различных онкомаркеров). Очевидно, что биомаркеры будут разными для различных препаратов, с одной стороны, и для различных конечных эффектов (ранних и отдаленных) радиационного поражения – с другой стороны. Нахождение одного или нескольких БМПР/БМУВ для каждого определенного сценария в опытах на культурах клеток, мелких и крупных лабораторных животных позволит проводить дальнейшие исследования выявленных маркеров на человеке без использования непосредственного радиационного воздействия. Итак, обязательной задачей радиобиолога-исследователя становится выявление для испытываемого им ПЛС биомаркера эффективности с целью его использования при второй стадии клинических испытаний вместо непосредственной оценки при той же нозологической форме (т.е. с применением лучевого воздействия).

В настоящее время разработан с той или иной степенью валидности ряд биомаркеров для некоторых ПЛС. Наиболее широко представлены биомаркеры для радиопротекторов с гипоксическим механизмом действия, ибо они опираются на “кислородный эффект” – наиболее изученный феномен противолучевого действия (индра-

лин/Б-190, ингибитор NO-синтаз Т 1023). Это оценка степени гипоксии по показателю снижения напряжения свободного кислорода ( $\Delta pO_2$ ) в костном мозге (только в эксперименте на животных) или в подкожной клетчатке (возможно и у человека), показатель активности сукцинат дегидрогеназы (СДГ-тест) в лимфоцитах крови и оценка концентрации лактата в крови как суммарного производного от степени гипоксии [7, 11, 15, 16]. Проведенные уже исследования свидетельствуют о наибольшей информативности и надежности показателя  $\Delta pO_2$ , но ряд нерешенных вопросов остается.

Как первый шаг в направлении к осуществлению аккредитации направления исследования противолучевых средств в 2020 г. в ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна был регламентирован процесс оценки эффективности радиопротекторов гипоксического механизма действия в виде утвержденного Генеральным директором стандарта организации “ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ К ДОКЛИНИЧЕСКИМ ИССЛЕДОВАНИЯМ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАДИОПРОТЕКТОРОВ С ПОМОЩЬЮ БИОМАРКЕРА”.

Приведенные выше биомаркеры находятся в разной степени разработанности, к тому же остается неясным, какую степень приближения к определению основных параметров эффективности исследуемого препарата именно для человека они могут дать. Оценки разработчиков этих биомаркеров колеблются от указания точной выживаемости для соответствующего уровня доз до приблизительной оценки в нескольких категориях. Есть основания считать, что эти расхождения и трудности при дальнейшей совместной работе и разработке регламентирующих документов будут преодолены.

Как обстоит дело с группой ПЛС под названием радиомодификаторы или радиомитигаторы, которые реализуют свое действие путем усиления восстановительных процессов независимо от того, вводятся они до облучения или, что особенно ценно, после лучевого воздействия (беталейкин, тромбopoэтин, флагеллин)? Для препарата энтолимод, близкого по механизму действия к беталейкину, в США в качестве биомаркеров предложена активация экспрессии генов *Г-КСФ* и *ИЛ-6* [12]. В наших исследованиях, правда, 3–4-годичной давности (арендовавшийся гамма-облучатель был законсервирован), на модели низкоэнергетического пролонгированного облучения мышцей были получены результаты о возможной биомаркерной функции ряда генов в отношении выхода злокачественных лимфом через 10 мес. после лучевого воздействия [17, 18].

Таким образом, можно резюмировать, что в принципе индикационный подход к оценке эффективности различных ПЛС показал свою со-

стоятельность, но пока в основном в экспериментах на животных. Исключение составили лишь весьма ограниченные исследования в России на человеке биомаркеров  $\Delta pO_2$  и активности СДГ для оценки эффективности индралина с неоднозначной интерпретацией полученных результатов и, вероятно, использование показателей экспрессии генов *Г-КСФ* и *ИЛ-6* для оценки эффективности энтолимоды у человека в США.

Другой урок, который должен извлечь наш великий менеджмент из истории развития исследований ПЛС в России, состоит в том, что ставка на многочисленные работающие чаще всего скрининговым методом отдельные лаборатории себя в конечном итоге не оправдала. Два успешных проекта по созданию медицинских препаратов Б-190/индралина и Беталейкина были следствием того, что возникли неформальные объединения нескольких институтов вокруг креативных центров: в первом случае ИБФ МЗ СССР и во втором случае — ГосНИИ ОЧБ. Теперь надо попытаться реализовать этот опыт на современном этапе явно кризисного состояния всего направления. Необходимо создать 2–3 центра разработок ПЛС с законченными технологическими цепочками, включающими в себя следующие структуры: первичный разработчик (лаборатория химикотехнологического или биотехнологического профиля) — исследователь (радиобиологическая и фармакологическая лаборатории) — испытатель (клиническое отделение, имеющее опыт работы с облученными пациентами, с лучевой и химиотерапией онкологических больных). Необязательно, чтобы все элементы цепочки были представлены в одном учреждении, но обязательно, чтобы вся цепочка находилась под мониторингом основного центра разработки. В настоящее время на роль таких центров точно подходят ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России (Москва) и МРНЦ им. А.Ф. Цыба (Обнинск), возможно — ИБК РАН (Пушино). Особое место во всей системе разработок ПЛС занимает в настоящее время “ГосНИИ особо чистых биопрепаратов” ФМБА России, похоже, единственный аккредитованный разработчик ПЛС в России. Возможно, он может сам стать ведущим центром разработок, наряду с уже перечисленными организациями. Конечно, такие центры должны быть обеспечены современными облучательскими установками, дозиметрической службой, современными вивариями (желательно с отделениями для крупных лабораторных животных). С учетом современных реалий в работе такой технологической цепочки должны участвовать метрологическая служба и служба контроля качества.

Создание таких технологических цепочек должно осуществляться в процессе разработки конкретных препаратов и, конечно, по госзаказу. Выбор здесь невелик. На данный момент наибо-

лее продвинута разработка препарата Т1023 (ингибитор NO-синтаз, производное тиомочевины) в МРНЦ им. А.Ф. Цыба, но готовность к проведению клинических испытаний с использованием на 2-й стадии предложенного разработчиками биомаркера лактатамии пока остается неясной. Имеется задел в совместной разработке дженерика флагеллина “ГосНИИ ОЧБ” ФМБА России, ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России и ФГБНУ “Институт экспериментальной медицины” (Санкт-Петербург), но работа практически остановлена из-за сложностей с наработкой препарата. Имеется задел в работе с пероксиредоксинами в ИБК РАН.

Создание ведущих центров разработки ПЛС с законченными технологическими цепочками и аккредитацией в них всестороннего исследования различных ПЛС под менеджментом единой государственной структуры позволит обеспечить более надежное поддержание радиационной безопасности страны.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Горизонтов П.Д., Разоренова В.А., Сбитнева М.Ф., Андрианова И.Е.* Радиозащитная и лечебная эффективность препарата РС-10 в опытах на собаках // Радиационная биология. Радиоэкология. 2017. Т. 57. № 5. С. 529–539. [Gorizontov P.D., Razorenova V.A., Sbitneva M.F., Andrianova I.E. Radiozashchitnaia i lechebnaia effektivnost preparata RS-10 v opytakh na sobakakh // Radiats. Boil. Radioekol. 2017. V. 57. № 5. P. 529–539 (In Russ.)]
2. *Кетлинский С.А.* Перспективы клинического применения рекомбинантных цитокинов // Вестн. РАН. 1993. № 2. С. 11–18. [Ketlinskii S.A. Perspektivy klinicheskogo primeneniia rekombinantnykh tsitokinov // Vestn. RAMN. 1993. № 2. P. 11–18 (In Russ.)]
3. *Симбирцев А.С., Кетлинский С.А., Гершанович М.Л.* Новые подходы к клиническому применению Беталейкина — рекомбинантного интерлейкина-1 бета человека // Terra Medica. 2000. № 1 (17). С. 3–6. [Simbirtsev A.S., Ketlinskii S.A., Gershanovich M.L. Novye pokhody k klinicheskomu primeneniiu Beta-leikina rekombinantnogo interleikina-1 beta cheloveka // Terra Medica. 2000. № 1 (17). P. 3–6 (In Russ.)]
4. *Рогачева С.А., Симбирцев А.С.* Применение рекомбинантных интерлейкинов-1а и 1б человека в качестве средств раннего лечения острой лучевой болезни в эксперименте // Радиационная биология. Радиоэкология. 1997. Т. 37. Вып. 1. С. 61–67. [Rogacheva S.A., Simbirtsev A.S. Primenenie rekombinantnykh interleikinov-1a i 1b cheloveka v kachestve sredstv rannego lecheniia ostroi luchevoi bolezni v eksperimente // Radiats. Biologiya. Radioekologiya. 1997. V. 37. Vyp. 1. P. 61–67 (In Russ.)]
5. *Рождественский Л.М., Кончаловский М.В., Баранов А.Е. и др.* Возможность применения Беталейкина (интерлейкин-1) для экстренной терапевти-

- ческой помощи при остром аварийном облучении человека // Человек и лекарство: Тез. докл. Пятого Рос. нац. конгр. М., 1998. С. 231–232. [*Rozhdestvensky L.M., Konchalovsky M.V., Baranov A.E. i dr. Vozmozhnost primeneniia Betaleikina interleikin-1 dlia ekstremnoi terapevticheskoi pomoshchi pri ostrom avariinom obluchenii cheloveka // Chelovek i lekarstvo: Tez. Dokl. Piatogo Ros. nats. Kongr. M., 1998. P. 231–232 (In Russ.)*]
6. *Гершанович М.Л., Филатова Л.В.* Беталейкин (рекомбинантный интерлейкин-1 $\beta$ ) – эффективный стимулятор и протектор лейкопоза в условиях комбинированной химиотерапии злокачественных опухолей: Пособие для врачей. СПб.: Новая Альтернативная полиграфия, 2008. 16 с. [*Gershovich M.L., Filatova L.V.* Betaleikin rekombinantnyi interleikin-1 effektivnyi stimulator i protektor leukopoeza v usloviakh kombinirovannoi khimioterapii zlokachestvennykh opukholei: Posobie dlia vrachei. SPb.: Novaya Alternativnaia poligrafiia, 2008. 16 s. (In Russ.)]
  7. *Ильин Л.А., Рудный Н.М., Суворов Н.Н. и др.* Индралин – радиопротектор экстренного действия. М.: Вторая типография МЗ РФ, 1994. 436 с. [*Illin L.A., Rudnyi N.M., Suvorov N.N. et al.* Indralin radioprotektor ekstremnogo deistviia. M.: Vtoraia tipografiia MZ RF, 1994. 436 s. (In Russ.)]
  8. *Васин М.В.* Препарат Б-190 (индралин) в свете формирования представлений о механизме действия радиопротекторов // Радиационная биология. Радиоэкология. 2020. Т. 60. № 4. С. 378–395. [*Vasin M.V.* Preparat B-190 indralin v svete formirovaniia predstavlenii o mekhanizme deistviia radioprotektorov // Radiats. Biol. Radioekol. 2020. V. 60. № 4. P. 378–395 (In Russ.)]
  9. *Баранов А.Е., Гуськова А.К., Протасова Т.Г.* Опыт лечения пострадавших при аварии на Чернобыльской АЭС и непосредственные исходы заболевания // Мед. радиология. 1991. № 3. С. 29–32. [*Baranov A.E., Guskova A.K., Protasova T.G.* Opyt lecheniia posttradvshikh pri avarii na Chernobylskoi AES i neposredstvennye iskhody zabolevaniia // Med. Radiol. 1991. № 3. P. 29–32 (In Russ.)]
  10. *Селидовкин Г.Д.* Оказание медицинской помощи в ранней фазе развития аварии на Чернобыльской АЭС. Прочеты и ошибки // Медицина катастроф. Спец. вып. 1996. С. 5–12. [*Selidovkin G.D.* Okazanie meditsinskoi pomoshchi v rannei faze razvitiia avarii na Chernobylskoi AES. Proshchety i oshibki // Meditsina katastrof. Spets. Vypusk. 1996. P. 5–12 (In Russ.)]
  11. *Рождественский Л.М.* Механизмы радиозащитного эффекта и индикация эффективности радиопротекторов. М.: Энергоатомиздат, 1985. 128 с. [*Rozhdestvensky L.M.* Mekhanizmy radiozashchitnogo effekta i indikatsiia effektivnosti radioprotektorov. M.: Energoatomizdat, 1985. 128 s. (In Russ.)]
  12. *Krivokrysenko V.I., Shakhov A.N., Gudkov A.V., Feinstein E.* Identification of G-CSF and IL-6 as Candidate Biomarkers of CBLB502 Efficacy as a Medical Radiation Countermeasure // JPET Fast Forward. July 26, 2012. JPET № 196071. P. 1–46.
  13. *Кулинский В.И.* Радиопротекторы рецепторного действия // Радиационная биология. Радиоэкология. 1993. Т. 33. Вып. 3 (6). С. 831–846. [*Kulinsky V.I.* Radioprotektory retseptornogo deistviia // Radiats. Biologiya. Radioekologiya. 1993. V. 33. Vyp. 3 (6). P. 831–846 (In Russ.)]
  14. *Рождественский Л.М.* Классификация противолучевых средств в аспекте их фармакологического сигнала и сопряженности со стадией развития лучевого поражения // Радиационная биология. Радиоэкология. 2017. Т. 57. № 2. С. 1–18. [*Rozhdestvensky L.M.* Klassifikatsiia protivoluchevykh sredstv v aspekte ikh farmakologicheskogo signala i sopriazhennosti so stadiiei razvitiia lucheвого porazheniia // Radiats. Biologiya. Radioekologiya. 2017. V. 57. № 2. P. 1–18 (In Russ.)]
  15. *Васин М.В., Ушаков И.Б., Королева Л.В., Антипов В.В.* Роль клеточной гипоксии в противолучевом эффекте радиопротекторов // Радиационная биология. Радиоэкология. 1999. Т. 39. № 2–3. С. 238–248. [*Vasin M.V., Ushakov I.B., Koroleva L.V., Antipov V.V.* Rol kletochnoi gipoksii v protivoluchevom effektk radioprotektorov // Radiats. Biol. Radioekol. 1999. V. 39. № 2–3. P. 238–248 (In Russ.)]
  16. *Макарчук В.М., Филимонова М.В., Филимонов А.С. и др.* Лактатемия как возможный фармакологический маркер радиорезистентности при действии ингибитора NOS T1023 // Радиация и риск. 2020. Т. 29. № 1. С. 45–56. [*Makarchuk V.M., Filimonova M.V., Filimonov A.S. i dr.* Laktatemiiia kak vozmozhnyi farmakologicheskii marker radiorezistentnosti pri deistvii ingibitora NOS T1023 // Radiatsiia i risk. 2020. V. 29. № 1. P. 45–56 (In Russ.)]
  17. *Рождественский Л.М., Михайлов В.Ф., Шуленина Л.В. и др.* Оценка влияния противолучевых средств при пролонгированном низкоэнергетическом излучении на экспрессию генов и микроРНК в костном мозге мышей в отдаленный период // Радиационная биология. Радиоэкология. 2018. Т. 58. № 6. С. 608–618. [*Rozhdestvensky L.M., Mikhailov V.F., Shulenina L.V. i dr.* Otsenka vliianiia protivoluchevykh sredstv pri prolongirovannom nizkomoshchnostnom izlucheniia na ekspressiiu genov i mikroRNK v kostnom mozge myshei v otdalennyi period // Radiatsionnaia biologiya. Radioekologiya. 2018. V. 58. № 6. P. 608–618 (In Russ.)]
  18. *Салеева Д.В., Михайлов В.Ф., Рождественский Л.М. и др.* Анализ изменения активности генов, контролирующей регуляцию гемопоеза при формировании опухолей у облученных мышей // Докл. РАН. Науки о жизни. 2020. Т. 491. № 1. С. 168–171. [*Saleeva D.V., Mikhailov V.F., Rozhdestvensky L.M. i dr.* Analiz izmeneniia aktivnosti genov kontroliruiushchikh reguliatsiiu gemopoeza pri formirovaniia opukholei u obluchennykh myshei // Doklady RAN. Nauki o zhizni. 2020. V. 491. № 1. P. 168–171 (In Russ.)]

## Issues of the Organization of the Development of Anti-Radiation Agents in Russia in the Aspect of Drug Safety in Case of Radiation Incidents

L. M. Rozhdestvensky<sup>a,#</sup>, N. A. Bogdanenko<sup>a</sup>, E. V. Ilchenko<sup>a</sup>, D. V. Guryev<sup>a,b</sup>,  
Yu. A. Fedotov<sup>a,b</sup>, and A. N. Osipov<sup>a,b,c</sup>

<sup>a</sup>*A.I. Burnazyan Federal Medical and Biophysical Center, Moscow, Russia*

<sup>b</sup>*N.N. Semenov Federal Center of Chemical Physics, Russian Academie of Sciences, Moscow, Russia*

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

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

The paper reviews in short historical aspect the development of anti-radiation agents for radiation incidents in Russia. There has been noted the important role of different science centers collaboration in the creation of 2 base medical drugs B-190/indralin and betaleukine in the period before Chernobyl accident. But then in zero and the tenth years of 21st century it was occurred the decreasing of anti-radiation agents development in all the leading centers.. The reasons of the crisis are connected to management decreasing, to massive  $\gamma$ -irradiation facility conversation, the closure of research center range, the retardation in science research infrastructure (modern vivariums, nurseries for lab animals breeding, modern facility equipment). There were arised serious difficulties regarding 2nd stage clinical trials carrying for anti-radiation agents. To overcome the crisis it's required first of all to consolidate departmental management concerning specifically Federal medico-biological agency of Russia, Russian Academy of sciences, Ministry of Health. The goal of departmental management should consist in restoration and advancement science-research infrastructure of their subordinate centers and institutes. It's necessary also to develop new methodological guidelines of anti-radiation agents preclinical study. The last should be targeted at finding biomarkers of increased (under anti-radiation agents influence) radioresistance. The biomarkers, that detect pharmacological effect correlating with anti-radiation effect might be applied at human beings in 2nd stage of clinical trials without radiation exposure.

**Keywords:** anti-radiation agents, betaleukin, indralin, biomarkers of increased radioresistance

## МОДИФИКАЦИЯ РАДИАЦИОННЫХ ЭФФЕКТОВ

УДК 615:599.323.4:57.084.1:591.51:621.3.038.628:539.1.047

### СОЧЕТАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ЗАЩИТНЫХ АГЕНТОВ И УСКОРЕННЫХ ИОНОВ УГЛЕРОДА НА ПОВЕДЕНИЕ МЫШЕЙ

© 2022 г. С. С. Сорокина<sup>1,\*</sup>, С. И. Паскевич<sup>1</sup>, С. И. Заичкина<sup>1</sup>, А. Е. Мальков<sup>1</sup>, В. А. Пикалов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

<sup>2</sup> Институт физики высоких энергий им. А.А. Логунова  
Национального исследовательского центра “Курчатовский институт”, Протвино, Россия

\*E-mail: sorokinasvetlana.iteb@gmail.com

Поступила в редакцию 07.04.2021 г.

После доработки 09.07.2021 г.

Принята к публикации 01.09.2021 г.

Проведено исследование сочетанного действия защитных агентов (гелий-неоновый лазер, ибупрофен, мексидол) и ускоренных ионов углерода (<sup>12</sup>C) в дозе 3 Гр на поведение мышей. Было показано, что облученные животные не проявляют измененную модель поведения: уровень тревожности не увеличен, наблюдается более медленная по сравнению с контролем положительная динамика обучения и не наблюдается изменений в гиппокамповозависимой памяти. Дисперсионный анализ кривых обучения выявил разные коэффициенты приобретения навыка внутри экспериментальных групп, при этом самый низкий характерен для группы, облученной в дозе 3 Гр <sup>12</sup>C без защитных агентов. Кроме того, анализ предпочтения новизны при тестировании на распознавание нового объекта показал, что у этой группы животных наблюдается нарушение непространственной гиппокамповосредованной кратковременной памяти.

**Ключевые слова:** ионы углерода, адронная радиотерапия, нейропротекторы, когнитивные нарушения, мыши

**DOI:** 10.31857/S0869803121060102

Необходимость изучения последствий воздействия плотноионизирующей радиации на ЦНС и поиска способов защиты обусловлена важными практическими задачами, стоящими перед современной наукой: развитием новых ядерных технологий в медицине, связанных с переходом от стандартных  $\gamma$ - и рентгеновской терапии к облучению ускоренными ионами, увеличением риска техногенных катастроф и увеличением дальности космических полетов, в том числе подготовкой экспедиции на Марс, во время которых организм подвергается воздействию тяжелых ионов в составе галактических космических лучей. Лучевая терапия широко используется в клинической практике для лечения различных опухолей, в том числе головного мозга. После продолжительных исследований таких пациентов стало известно, что на фоне курса проведенной лучевой терапии развивается значительный когнитивный дефицит [1, 2]. В модельных экспериментах на мышах было показано, что при облучении в дозах 2–10 Гр рентгеновского излучения развиваются когнитивные дефициты, которые сопровождаются резким угнетением взрослого нейрогенеза [3]. Данные по влиянию тяжелых заряженных частиц на структуры мозга, поведение и память противоре-

чивы и немногочисленны [4–11], поскольку подобное моделирование эффектов тяжелых ионов на ЦНС возможно при однократном облучении животных только на ускорителях заряженных частиц. По сравнению со многими тяжелыми частицами (<sup>1</sup>H, <sup>4</sup>He, <sup>16</sup>O, <sup>28</sup>Si, <sup>48</sup>Ti, <sup>56</sup>Fe), входящими в состав космического излучения, ионам углерода до настоящего времени было уделено гораздо меньше внимания, в частности, что касается его влияния на нейрогенез. Этот факт довольно удивителен, поскольку в настоящее время облучение ионами углерода становится перспективным средством в радиационной терапии опухолей. На сегодняшний день основной целью современной терапии нейродегенеративных последствий радиационного лечения рака является активный поиск средств, способных остановить или замедлить дегенерацию и гибель предрасположенных к патологическому процессу клеток. В качестве наиболее перспективных средств защиты рассматриваются антиоксиданты, противовоспалительные соединения, нейропротекторы, а также инфракрасное и лазерное медицинское оборудование [12–16]. Ранее нами при исследовании сочетанного действия ускоренных ионов углерода с энергией 450 МэВ/н в расширенном пике Брэгга

в дозе 1.5 Гр и таких агентов как инфракрасное излучение, гелий-неоновый лазер (HeNe), голодание, CaCl<sub>2</sub> и ибупрофен было показано их радиозащитное действие по уровню цитогенетических повреждений в костном мозге, клеточности лимфоидных органов (тимус и селезенка) и продукции АФК в цельной крови у тотально облученных мышей [17]. Кроме того, при исследовании ранних отсроченных эффектов воздействия ускоренных ионов углерода и протонов в дозах 1.5 и 1.8 Гр на когнитивные функции мышей было показано, что облученные животные не проявляют измененную модель поведения: уровень тревожности не увеличен, ярко выражена исследовательская модель поведения, не наблюдается дефицит гиппокамповозависимой памяти. Однако в тесте долговременной памяти группа животных, локально облученная протонами, совершает меньшее число ошибок в нахождении скрытой норки-мишени, что может свидетельствовать о лучшем сохранении следов памяти [18].

Целью настоящей работы было исследование сочетанного действия защитных агентов (гелий-неоновый лазер, ибупрофен, мексидол) и ускоренных ионов углерода в дозе 3 Гр на поведение мышей.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Двухмесячных самцов белых беспородных мышей колонии SHK (29–32 г,  $n = 70$ ) содержали в клетках по 10 особей в виварии ИТЭБ РАН (режим освещенности – 12 ч/12 ч, свободный доступ к воде и пище). Мыши были разделены на группы: 1) облученные ионами углерода в дозе 3 Гр без защитных веществ; 2) с введением в/б раствора мексидола (10 мг/кг, один раз в сутки, 5 дней) после облучения [19]; 3) с введением в/б раствора ибупрофена (10 мг/кг, дважды в течение суток) до или после облучения [20]; 4) обработанные гелий-неоновым лазером в область носа в течение 15 с (632.8 нм, 0.7 мВт, 0.16 мВт/см<sup>2</sup>) до или после облучения; и 5) контрольные животные, подвергнутые всем тем же манипуляциям при выключенном источнике облучения. Исследование было одобрено Комиссией по биологической безопасности и биоэтике ИТЭБ РАН (протокол №23/2019). Эксперименты проводили в соответствии с требованиями Федерации европейских научных ассоциаций по содержанию и использованию лабораторных животных в научных исследованиях (FELASA).

Мышей наркотизировали ксилазин-золетиловой смесью и подвергали тотальному облучению ускоренными ионами углерода с энергией 450 МэВ/н в модифицированном пике Брэгга шириной 30 мм в дозе 3 Гр (1.6 Гр/мин) в однородном пучке, сформированным “воблер” магнитом, в помещении временного радиобиологи-

ческого стенда ускорительного комплекса У-70 (ИФВЭ НИЦ “Курчатовский институт”, Протвино). Сеанс облучения сопровождался дозиметрической пленкой “ЕВТЗ” (Gafchromic®film), закрепленной на торце контейнера с мышами со стороны падающего пучка, и контролировался при помощи нейтронного монитора.

Через 2 мес. после облучения, что соответствует срокам ранних отсроченных повреждений, для оценки общей активности и уровня тревожности, пространственного обучения, кратковременной и долговременной гиппокамповозависимой памяти использовали тест открытого поля, лабиринт Барнс и тест на распознавание нового объекта. Испытания в тесте открытого поля проводились по стандартной методике, описанной [21]. Установка представляла собой белую квадратную коробку размером 60 × 40 см, с видеокамерой, установленной на высоте 1.5 м для записи испытаний. Животные были индивидуально размещены в центре открытой арены, где для создания некомфортных условий использовали яркий свет и вентилятор. Активность животного регистрировалась в течение 4 мин. Были проанализированы такие параметры, как частота выхода и продолжительность нахождения в центре и углах установки, скорость перемещения и пройденное расстояние. Эмоциональное состояние оценивали по таким критериям, как частота и продолжительность груминга, а также количество актов мочеиспускания и дефекации. Лабиринт Барнс используется для оценки пространственного обучения и памяти. Установка, описанная [22], представляет собой круглый стол диаметром 110 см и с 20 лунками по краям. Этот тест состоит из двух фаз – обучения в течение 3 дней по три сессии в сутки и тестирования на 3-й и 9-й дни после обучения с одной сессией в сутки. Мышей приучают находить убежище под одной из лунок в течение 3 мин наблюдения, после чего мышь, самостоятельно или принудительно, помещается в норку на 2 мин. Регистрируются пройденное расстояние, скорость и время, проведенное как в “правильном” секторе, так и в других секторах в течение сессии, а также время задержки до нахождения убежища. Умеренные отрицательные подкрепления (яркий свет, вентилятор) обеспечивают дополнительную мотивацию по поиску убежища. Будучи менее стрессогенным, он служит хорошей альтернативой тесту Морриса. Для исследования нарушений функций непространственной гиппокамповозависимой кратковременной памяти был применен тест распознавания нового объекта, который основан на запоминании знакомых объектов и естественном для грызунов предпочтении новизны, что позволяет выявить избирательное действие на внимание и эпизодическую память. В ходе эксперимента на этапах обучения и тестирования регистрируется совокупное время исследу-

**Таблица 1.** Изменение ориентировочно-исследовательского поведения в тесте “открытое поле” у мышей, подвергнутых воздействию ускоренных ионов углерода в присутствии и в отсутствие защитных агентов  
**Table 1.** Changes in exploratory behavior in the open field test in mice exposed to accelerated carbon ions in the presence and absence of protective agents

Группа мышей	Скорость, см/с	Расстояние, см	Частота выхода в центр	Суммарное время в центре, с
Контроль	5.32 ± 0.72	1057.67 ± 143.82	7.1 ± 2.08	6.79 ± 2.94
3 Гр <sup>12</sup> С	6.32 ± 0.43	1256.28 ± 86.15	7.4 ± 1.19	4.92 ± 0.94
3 Гр <sup>12</sup> С + ибупрофен	8.43 ± 0.85*	1070.41 ± 121.30	7.44 ± 2.63	6.49 ± 3.15
Ибупрофен + 3 Гр <sup>12</sup> С	9.83 ± 1.53*	1301.62 ± 116.15	6.5 ± 0.93	7.26 ± 1.34
3 Гр <sup>12</sup> С + гелий-неоновый лазер	8.9 ± 1.63*	1363.12 ± 152.24	8.3 ± 3.16	5.72 ± 2.48
Гелий-неоновый лазер + 3 Гр <sup>12</sup> С	10.13 ± 2.04*	1376.24 ± 204.12	7 ± 1.41	8.25 ± 2.01
3 Гр <sup>12</sup> С + мексидол	5.08 ± 1.02	1010.24 ± 102.34	4.33 ± 1.25	4.49 ± 0.47

дования знакомого и нового объектов и высчитывается коэффициент дискриминации (КД). Тестирование проводилось в установке “открытое поле”, с которой животные уже были знакомы. Время наблюдения занимало 5 мин с интервалом между этапами в 15–20 мин. Все поведенческие тесты сопровождалось автоматическим видеотрекингом мышей с применением специального программного обеспечения.

Анализ достоверности отличий между группами проводили с помощью *U*-критерия Манна–Уитни (уровень значимости  $p < 0.05$ ). Статистическое сравнение кривых обучения проводили с использованием дисперсионного анализа ANOVA в программном пакете для статистического анализа IgorPro 8.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

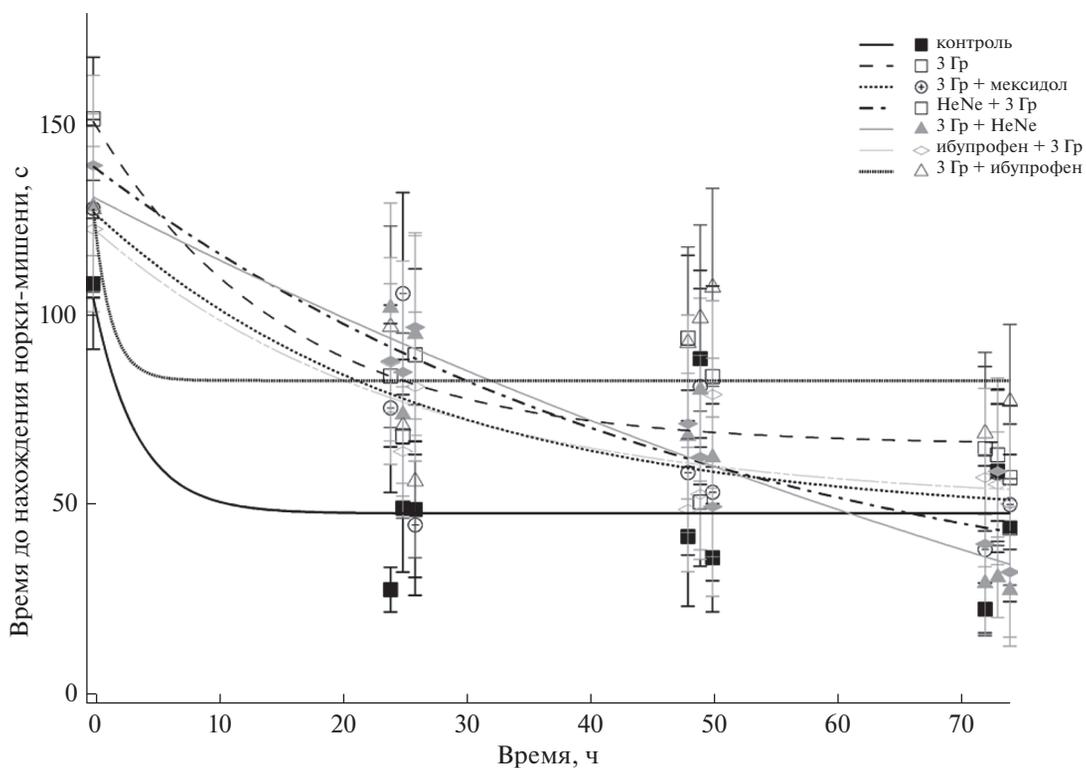
Как видно из табл. 1, у животных, облученных ускоренными ионами углерода в дозе 3 Гр в присутствии гелий-неонового лазера и ибупрофена, как до облучения, так и после, скорость перемещения выше по сравнению с контрольными мышами ( $p < 0.05$ ). Животные из всех групп выходят в центр открытого поля с той же частотой и проводят там столько же времени, что и контроль. Для оценки исследовательской активности дополнительно анализировали вертикальную активность по числу стоек, а для оценки эмоционального состояния учитывали количество актов груминга, дефекации и уринации. Эти наблюдения необходимы для корректной оценки наличия стресса. Низкий уровень дефекации/уринации на фоне высокой локомоторной активности свидетельствует об отсутствии тревожности у экспериментальных групп по сравнению с контролем (данные не проиллюстрированы).

На рис. 1 представлены кривые обучения мышей, демонстрирующие изменение времени до нахождения убежища в лабиринте Барнс при уве-

личении времени обучения в лабиринте. Все экспериментальные группы продемонстрировали обучение в течение девяти сессий, однако наклон кривых свидетельствует о том, что они делают это медленнее контрольных. Кроме того, дисперсионный анализ кривых обучения выявил, что для животных, облученных в дозе 3 Гр <sup>12</sup>С, а также в аналогичной дозе с применением мексидола или гелий-неонового лазера характерен самый низкий коэффициент обучения ( $p < 0.05$ ) с наиболее медленной динамикой приобретения навыка у группы мышей, облученной ионами углерода в отсутствие защитных веществ.

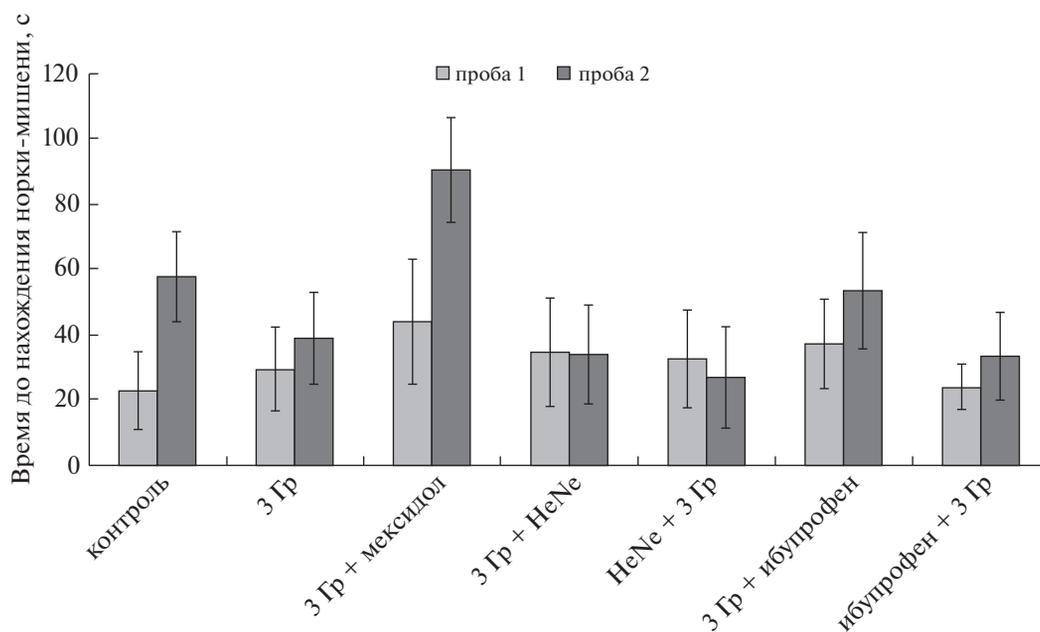
При проведении теста на долговременную память на 2-й (проба 1) и 9-й дни (проба 2) после обучения достоверных отличий по сравнению с контрольной группой не выявлено (рис. 2). Увеличение среднего времени поиска убежища в группе мышей, облученных ионами углерода и обработанных мексидолом, было связано с возросшей долей животных, не выполнивших задачу (33 и 66% в 1-й и 2-й пробе соответственно), в то время как животные, выполнившие задачу, находили норку в те же сроки, что и контроль.

Анализ предпочтения новизны при тестировании на распознавание нового объекта показал, что коэффициент дискриминации (КД) для контрольных мышей, а также групп: 3 Гр <sup>12</sup>С, 3 Гр <sup>12</sup>С + ибупрофен + 3 Гр <sup>12</sup>С, 3 Гр <sup>12</sup>С + гелий-неоновый лазер + 3 Гр <sup>12</sup>С, ибупрофен + 3 Гр <sup>12</sup>С, 3 Гр <sup>12</sup>С + гелий-неоновый лазер и 3 Гр <sup>12</sup>С + ибупрофен составил 0.06, –0.09, 0.02, 0.34, 0.72, 0.27 и 0.16 соответственно. Следовательно, через 2 мес. после облучения только в группе мышей, облученной в дозе 3 Гр углерода в отсутствие защитных веществ, выявлено нарушение непространственной гиппокампопосредованной кратковременной памяти, при этом у мышей в контрольной группе и группе 3 Гр <sup>12</sup>С + ибупрофен + 3 Гр <sup>12</sup>С, предпочтение новизны наименее выражено.



**Рис. 1.** Динамика обучения мышей, подвергнутых воздействию ускоренных ионов углерода в присутствии и в отсутствие защитных агентов, в лабиринте Барнс.

**Fig. 1.** Dynamics of learning outcomes of mice exposed to accelerated carbon ions in the presence and absence of protective agents in the Barnes maze.



**Рис. 2.** Влияние ускоренных ионов углерода в присутствии защитных агентов на пространственную память мышей в лабиринте Барнс: проба 1 – тестирование животных в лабиринте на 3-й день после облучения; проба 2 – тестирование животных в лабиринте на 9-й день после облучения.

**Fig. 2.** The effect of accelerated carbon ions in the presence and absence of protective agents on the spatial memory of mice in the Barnes maze.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных экспериментов было показано, что через 2 мес. после тотального облучения мышей ускоренными ионами углерода в дозе 3 Гр как в присутствии, так и в отсутствие исследованных защитных средств (гелий-неоновый лазер, ибупрофен, мексидол) уровень тревожности не увеличен, наблюдается более медленная по сравнению с контролем положительная динамика обучения и отсутствует дефицит пространственной гиппокамповозависимой памяти, при этом в группе мышей, подвергнутых облучению без защитных агентов, наблюдаются самый низкий коэффициент обучения и нарушение непространственной гиппокамповозависимой кратковременной памяти. Литературных данных по влиянию аналогичных доз тяжелых заряженных ионов в отдаленные сроки после облучения животных не много и они противоречивы. Так, часть работ свидетельствует о том, что тяжелые заряженные частицы приводят к нарушению контекстной и пространственной памяти, влияя на процессы обучения [4, 5], в то время как другие исследователи сообщают об отсутствии влияния радиации на когнитивные способности [6]. В работе [7] на мышах было показано, что через 2 ч после тотального облучения ионами углерода в дозе 1 Гр наблюдается пониженный уровень пролиферации нейронов в зубчатой извилине, однако, через 3 мес. количество незрелых нейронов и уровень пролиферации не отличаются от контроля, свидетельствуя о способности нейрогенеза мыши восстанавливаться после негативного влияния облучения. При исследовании комбинированного тотального хронического облучения крыс  $\gamma$ -лучами в дозе 0.4 Гр и краниального острого облучения ионами углерода в дозе 0.14 Гр были показаны долгосрочное изменение психоэмоционального статуса и повышение эффективности пространственного обучения [8]. В работе [9] было исследовано сочетанное действие облучения протонами в дозах 1.5 и 3 Гр и антиортостатического вывешивания на крыс и показано его незначительное влияние на высшие интегративные функции ЦНС, что соотносилось со слабо выраженной модификацией концентрации моноаминов в когнитивных и эмоционально-мотивационных структурах мозга. Однако при облучении крыс ионами углерода отмечаются существенные изменения в обмене моноаминов в мозге, причем наиболее чувствительными структурами являются префронтальная кора, nucleus accumbens и гиппокамп. Стоит отметить, что исследователи при оценке влияния тяжелых ионов на поведение лабораторных животных анализируют последствия как в острый период воздействия, так и отсроченный. Так, в работе [10] показано, что через 3 мес. после облучения ионами  $^{56}\text{Fe}$  наблюдается нарушение поведения, связан-

ного с функцией дофаминовой системы: моторного поведения, амфетамин-опосредованного теста аверсивного обучения, оперантного обусловливания. В другом исследовании было показано, что при облучении ионами  $^{56}\text{Fe}$  даже в очень низкой дозе 0.5 Гр нарушается пространственная память, связанная с функцией гиппокампа, что было выявлено через 3 мес. после воздействия при тестировании животных в лабиринте Барнс [11].

Приведенное обсуждение показывает, что при тотальном облучении мышей ионами углерода в дозе 3 Гр можно было ожидать существенное влияние на когнитивные и эмоциональные реакции мышей с развитием негативного воздействия со временем. Полученные результаты, однако, показали, что облученные животные в ранние отдаленные сроки (2 мес.) не проявляют измененную модель поведения в тесте открытого поля и поддаются, хоть и более медленно, обучению в лабиринте Барнс, при этом отмечается нарушение непространственной гиппокамповозависимой кратковременной памяти в тесте на распознавание нового объекта. Находится ли исследуемая доза 3 Гр ниже порога воздействия, приводящего к стойким изменениям в поведении облученных мышей, или же к 2 мес. наблюдается частичное восстановление нейрогенеза — задача дальнейших исследований влияния ионов углерода в разные сроки после воздействия в присутствии и в отсутствие исследуемых агентов.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность Е.Н. Смирновой и А.Е. Шемякову — сотрудникам лаборатории клеточной инженерии ИТЭБ РАН (Пушино) за помощь в организации и проведении эксперимента по облучению ускоренными ионами углерода на оборудовании ускорительного комплекса У-70 (ИФВЭ НИЦ “Курчатовский институт”, Протвино).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Monje M.* Cranial radiation therapy and damage to hippocampal neurogenesis // *Develop. Disabil. Res. Rev.* 2008. V. 14. № 3. P. 238–242.
2. *Padovani L., Andre N., Constine L.S., Muracciole X.* Neurocognitive function after radiotherapy for paediatric brain tumours // *Nat. Rev. Neurol.* 2012. V. 8. № 10. P. 578–588.
3. *Rola R., Raber J., Rizk A. et al.* Radiation-induced cognitive impairments are associated with changes in indicators of hippocampal neurogenesis // *Exp. Neurol.* 2004. V. 188. № 2. P. 316–330.
4. *Cherry J.D., Liu B., Frost J.L. et al.* Galactic cosmic radiation leads to cognitive impairment and increased plaque accumulation in a mouse model of Alzheimer's disease // *PLoS One.* 2012. V. 7. № 12: e53275.
5. *Cacao E., Cucinotta F.A.* Modeling heavy-ion impairment of hippocampal neurogenesis after acute and fractionated irradiation // *Radiat. Res.* 2016. V. 186. № 6. P. 624–637.

6. *Pecaut M.J., Haerich P., Miller C.N. et al.* The effects of low-dose, high-LET radiation exposure on three models of behavior in C57BL/6 mice // *Radiat. Res.* 2004. V. 162. № 2. P. 148–156.
7. *Zanni G., Deutsch H.M., Rivera P.D. et al.* Whole-body <sup>12</sup>C irradiation transiently decreases mouse hippocampal dentate gyrus proliferation and immature neuron number, but does not change new neuron survival rate // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 19. 3078.
8. *Kokhan V.S., Shakhbazian E.V., Markov N.A.* Psycho-emotional status but not cognition is changed under the combined effect of ionizing radiations at doses related to deep space missions // *Behav. Brain Res.* 2019. V. 362. P. 311–318.
9. *Ушаков И.Б., Штемберг А.С., Красавин Е.А. и др.* Эффекты космической радиации, комбинированного воздействия радиации и других факторов космического полета на функции ЦНС в модельных экспериментах на животных // *Успехи совр. биологии.* 2018. Т. 138. № 4. С. 323–335. [*Ushakov I.B., Shtemberg A.S., Krasavin E.A. i dr.* Effekty kosmicheskoy radiacii, kombinirovannogo vozdejstviya radiacii i drugih faktorov kosmicheskogo poleta na funkcii CNS v model'nyh eksperimentah na zhivotnyh // *Uspekhi sovremennoj biologii.* 2018. Т. 138. № 4. С. 323–335 (In Russ.)]
10. *Rabin B.M., Joseph J.A., Shukitt-Hale B.* Heavy particle irradiation, neurochemistry and behavior: thresholds, dose-response curves and recovery of function // *Adv. Space Res.* 2004. V. 33 (8). P. 1330–1333.
11. *Britten R.A., Davis L.K., Johnson A.M. et al.* Low (20 cGy) doses of 1 GeV/u <sup>56</sup>Fe-particle radiation lead to a persistent reduction in the spatial learning ability of rats // *Radiat. Res.* 2012. V. 177. P. 146–151.
12. *Chen H., Jacobs E., Schwarzschild M.A. et al.* Nonsteroidal antiinflammatory drug use and the risk for Parkinson's disease // *Ann. Neurol.* 2005. V. 58. P. 963–967.
13. *Asanuma M. and Miyazaki I.* Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in Parkinson's disease: possible involvement of quinone formation // *Exp. Neurol.* 2007. V. 206. P. 172–178.
14. *Xuan W., Vatansever F., Huang L. et al.* Transcranial low-level laser therapy improves neurological performance in traumatic brain injury in mice: Effect of treatment repetition regimen // *PLoS ONE.* 2013. V. 8. № 1: e53454.
15. *Johnstone D.M., Moro C., Stone J. et al.* Turning on lights to stop neurodegeneration: the potential of near infrared light therapy in Alzheimer's and Parkinson's disease // *Front. Neurosci.* 2016. V. 9: 500.
16. *Громова О.А., Торшин И.Ю., Стаховская Л.В. и др.* Опыт применения мексидола в неврологической практике // *Журн. неврологии и психиатрии.* 2018. Т. 118. № 10. С. 97–107. [*Gromova O.A., Torshin I.Yu., Stakhovskaya L.V. i dr.* Opyt primeneniya meksidola v nevrologicheskoy praktike // *Zhurnal nevrologii i psikiatrii.* 2018. Т. 118. № 10. С. 97–107 (In Russ.)]
17. *Dyukina A.R., Zaichkina S.I., Rozanova O.M. et al.* Activation of the body's natural defenses reserve of mice treated with various physico-chemical agents // *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 2019. V. 487. № 1. P. 1–6.
18. *Сорокина С.С., Заичкина С.И., Розанова О.М. и др.* Ранние отсроченные эффекты воздействия ускоренных ионов углерода и протонов на когнитивные функции мышей // *Радиационная биология. Радиоэкология.* 2020. Т. 60. № 3. С. 270–278. [*Sorokina S.S., Zaichkina S.I., Rozanova O.M. i dr.* Early delayed effect of accelerated carbon ions and protons on the cognitive functions of mice // *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya.* 2020. V. 60. № 3. С. 270–278 (In Russ.)]
19. *Гребенюк А.Н., Башарин В.А., Тарумов Р.А. и др.* Сравнительное изучение эффективности генистеина, мексидола, литана и цитохрома С как средств профилактики и ранней терапии радиационных поражений // *Вестн. Рос. воен.-мед. акад.* 2013. Т. 1. № 41. С. 102–106. [*Grebenyuk A.N., Basharin V.A., Tarumov R.A. i dr.* Sravnitel'noe izuchenie effektivnosti genisteina, meksidola, litana i citohroma C kak sredstv profilaktiki i rannej terapii radiacionnyh porazhenij // *Vestnik Rossiyskoy Voenno-meditsinskoy Akademii.* 2013. V. 1. № 41. С. 102–106 (In Russ.)]
20. *Świątkiewicz M., Zaremba M., Joniec I. et al.* Potential neuroprotective effect of ibuprofen, insights from the mice model of Parkinson's disease // *Pharmacol. Rep.* 2013. V. 65. P. 1227–1236.
21. *Christmas A.J. and Maxwell D.R.* A comparison of the effects of some benzodiazepines and other drugs on aggressive and exploratory behaviour in mice and rats // *Neuropharmacol.* 1970. V. 9. № 1. P. 17–29.
22. *Barnes D.* Stimulus equivalence and relational frame theory // *Psychol. Rec.* 1994. V. 44. P. 91–124.

## Combined Effect of Protective Agents and Accelerated Carbon Ions on the Behavior of Mice

S. S. Sorokina<sup>a, #</sup>, S. I. Paskevich<sup>a</sup>, S. I. Zaichkina<sup>a</sup>, A. E. Malkov<sup>a</sup>, and V. A. Pikalov<sup>b</sup>

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

<sup>b</sup> Institute of High Energy Physics, National Research Center Kurchatov Institute, Protvino, Russia

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

The combined effect of protective agents (helium-neon laser, ibuprofen, mexidol) and 3 Gy of accelerated carbon ions (<sup>12</sup>C) on the cognitive abilities of mice was studied. It was shown that the irradiated animals did not exhibit an altered behavior pattern: the level of anxiety was not increased, there was a slower positive dynamics of learning compared to the control, and there was no deficit in hippocampus-dependent memory. Analysis of variance of learning curves revealed different coefficients of skill acquisition within the experimental groups, with the lowest characteristic for the group irradiated with a dose of 3 Gy <sup>12</sup>C without protective agents. In addition, the analysis of the preference for novelty when testing for recognition of a new object showed that this group of animals has a violation of the nonspatial hippocampus-mediated short-term memory.

**Keywords:** carbon ions, hadron radiotherapy, neuroprotectors, cognitive impairment, mice

## КОМБИНИРОВАННЫЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ

УДК 591.18:591.51:57.042:57.084.1:599.323.4:539.1.047

# ОТДАЛЕННЫЕ НЕЙРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ КОМБИНИРОВАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ АНТИОРТОСТАТИЧЕСКОГО ВЫВЕШИВАНИЯ И ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ

© 2022 г. К. Б. Лебедева-Георгиевская<sup>1</sup>, А. А. Перевезенцев<sup>1</sup>, О. С. Кузнецова<sup>1</sup>,  
В. С. Кудрин<sup>1,2</sup>, А. А. Масанова<sup>1</sup>, А. С. Штемберг<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН,  
Москва, Россия

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт фармакологии им. В.В. Закусова РАМН, Москва, Россия

\*E-mail: andrei\_shtemberg@mail.ru

Поступила в редакцию 18.08.2021 г.

После доработки 04.11.2021 г.

Принята к публикации 09.11.2021 г.

Проведено исследование отдаленных последствий комбинированного действия синхронного квазихронического  $\gamma$ -облучения и антиортостатического вывешивания с дальнейшим облучением головы крыс ионами углерода  $^{12}\text{C}$  с учетом типологических характеристик экспериментальных животных. Показано, что в течение 6 мес. интегративные эффекты изучаемых воздействий достаточно успешно нивелируются. В то же время значимые различия, связанные с типологическими особенностями животных, сохраняются и в долгосрочной перспективе. Проведено исследование спектральных и амплитудно-частотных характеристик электроэнцефалографии (ЭЭГ) крыс после указанных воздействий. Выявлены значимые различия в средних амплитудах и частотах ЭЭГ у животных с различными типологическими характеристиками высшей нервной деятельности (ВНД). Показана смена доминирующего ритма у животных, подвергнутых экспериментальным воздействиям. Так, у контрольных животных доминирующим оказывается  $\tau$ -ритм, в то время как у облученных животных доминирует  $\delta$ -ритм. Наиболее важным результатом стали зарегистрированные существенные изменения в электрофизиологической активности мозга крыс даже спустя полгода после облучения. Значимое смещение частот в области всех ритмов свидетельствует о длительном нарушении электрофизиологической активности головного мозга. Результаты нейрхимических исследований выявили существенные различия в метаболизме моноаминов в ключевых структурах мозга животных с различными типологическими характеристиками ВНД, сочетающиеся с их проявлением на интегративном уровне (в поведении животных).

**Ключевые слова:** комбинированное воздействие,  $\gamma$ -облучение, ионы углерода, отдаленные эффекты, ЭЭГ, поведение животных, баланс моноаминов в мозге

DOI: 10.31857/S0869803122010052

Одной из основных проблем при подготовке межпланетных миссий является радиационный барьер – опасность воздействия галактических космических лучей, в состав которых входят тяжелые ионы высоких энергий, вплоть до  $10^{20}$  МэВ. При этом на первый план выходят возможные нарушения в центральной нервной системе (ЦНС) – так называемый эргономический риск, обусловленный возможными нарушениями операторской деятельности космонавтов, связанный с угрозой их жизни непосредственно в процессе полета. Существенные нарушения функций ЦНС при воздействии тяжелых ионов показаны в целом ряде работ [1–4]. Весьма важной, и в то же время наименее изученной проблемой являются нейробиологические эффекты комбинированного

действия ионизирующих излучений и нерадиационных факторов космического полета (ФКП), важнейшим из которых является микрогравитация. В наших предыдущих работах были исследованы различные аспекты эффектов комбинированного воздействия облучения, моделирующего космическое, и антиортостатического вывешивания (АнОВ) на поведение крыс и его нейрхимическое обеспечение [5–11]. В ряде работ [1–3] показано, что нейробиологические эффекты могут сохраняться и даже усугубляться в отдаленный период после облучения тяжелыми ионами. При этом отдаленные нейробиологические эффекты комбинированного действия моделируемой микрогравитации и ионизирующих излучений, а также электрофизиологические изменения

совершенно не изучены. Кроме того, как показано в ряде работ [12–14], важную роль в модификации нейробиологических эффектов воздействия ФКП играют индивидуальные и типологические особенности ВВД. Исходя из этого, задачами настоящей работы было изучение отдаленных эффектов комбинированного действия АНОВ и ионизирующих излучений, изучение нейробиологических его коррелят, а также роли типологических особенностей ВВД в модификации этих эффектов

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

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

Стеллажи с вывешенными животными были размещены в облучательской зоне на расстоянии 3.3 м от источника излучения, с таким расчетом, чтобы облучение всех крыс было равномерным.

Эксперимент продолжался в течение 7 сут. Для облучения использовали установку ГОБО-60 с источником  $^{137}\text{Cs}$  (72 г-экв. Ra). Мощность дозы составила 2.34 сГр/ч. В данном эксперименте было проведено квазихроническое облучение в течение всех 7 дней вывешивания, что приближает условия проведения эксперимента к реальным условиям космического полета. Доза  $\gamma$ -облучения составила 1.2 Гр. После окончания  $\gamma$ -облучения и снятия крыс с вывешивания было проведено однократное облучение головы животных ионами углерода  $^{12}\text{C}$  с энергией 450 МэВ в дозе 0.7 Гр на ускорителе У-70 на базе Института физики высоких энергий (Протвино).

Выбор режима облучения основывался на следующем: суммарная доза 1.9 Гр для крыс (исходя из их видовой радиочувствительности) примерно соответствует расчетной дозе, которая может быть получена космонавтами в межпланетном полете. Снижение суммарной дозы было обусловлено большей эффективностью квазихронического облучения по сравнению с фракционированным.

## Типологизация животных

Для типологизации животных использовали методику выработки условного рефлекса избегания закрытого (темного) пространства (“эмоционального резонанса”) по модифицированной методике П.В. Симонова). Экспериментальная камера состояла из открытой (освещенной) и закрытой (затемненной) частей. В течение 4–6 опытов каждую крысу помещали в открытую (светлую) часть камеры. Пребывание крысы в закрытом отсеке сопровождалось электрошоковым раздражением другой особи, вызывающим ее голосовые и двигательные реакции. Регистрировали общее время нахождения подопытной крысы в закрытом отсеке и частоту выходов оттуда в течение 5 мин наблюдения.

Показано, что различия в поведении животных в такой ситуации отражают индивидуальные типологические особенности их высшей нервной деятельности и дают возможность применять данную методику для исходного группирования животных по этому признаку [15, 16].

Исходно было использовано 68 самцов крыс линии LongEvans массой от 160 до 200 г, содержащихся в стандартных клетках по 7–8 особей в клетке. Доступ к корму (синтетический полнорационный) и воде свободный. Также было использовано 32 крысы линии LongEvans в качестве “актеров” (применяемых для вокализации при электрошоковом раздражении в шоковом отсеке камеры Симонова). Общее число животных в эксперименте — 100 голов.

В ходе тестирования все крысы, не задействованные в конкретный момент в тесте, были удалены из помещения с установкой и не могли слышать происходящего.

Освещенность в комнате составляла 60 лк/см<sup>2</sup>, посторонние шумы, движение операторов установки и прочие раздражающие факторы сведены к минимуму.

Тестирование проводилось в течение 2 дней по 5 мин (300 с) на каждое животное. Изначально животное высаживали в дальний от входа в темный отсек угол светлого отсека. Регистрировали количество входов в темный отсек и общее время, проведенное в темном отсеке. Выяснилось, что эти параметры имеют обратную зависимость.

В первый день среднее время в темном отсеке составило 254 с (медианное — 272 с) с разбросом от 17 до 299 с при среднем количестве входов 4.4.

На второй день общая тревожность крыс снизилась и среднее время составило 278 с (медианное — 288 с) с разбросом от 172 до 297 с, что демонстрирует расхождение в поведении индивидуумов. Среднее количество входов составило 2.8.

Для дальнейшей работы из общего массива были отобраны четыре группы по восемь животных:

- группа А (“Альтруисты” по терминологии Симонова) – наименьшее время в темном отсеке, наибольшее число входов, соответственно можно сделать вывод о наивысшей тревожности;
- группа Е (“Эгоисты”) – наибольшее время в темном отсеке, наименьшее число входов;
- группа С (контроль – эгоисты) – аналогично группе Е;
- группа К (контроль – альтруисты) – аналогично группе А.

Измеренные и усредненные параметры по группам даны в табл. 1; можно видеть, что крысы группы Е вообще не реагируют на сигналы раздражаемой крысы, тогда как крысы групп А и К реагируют достаточно активно, совершая до 10 (в среднем 6 и 7 соответственно) кратковременных выходов из темного отсека.

*Методы исследования поведения животных*

*Тестирование в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ).* Приподнятый крестообразный лабиринт является общепринятым тестом для оценки тревожности экспериментальных животных. Критерием тревожности служат количество выходов в открытый отсек лабиринта и время пребывания в нем.

Используется стандартная крестообразная установка размером 1.5 м, два противоположных рукава которой закрыты по бокам черными стенками высотой 50 см. Установка расположена на высоте 70 см от пола, что исключает побег животного. Крысу первоначально высаживают в темный рукав. Тест проводится на протяжении 2 мин, в ходе которых замеряют: число перебежек между темными рукавами, латентный период выхода в светлый рукав, количество выходов и общее время, проведенное в светлом рукаве.

*Выработка дифференцировочного условного рефлекса активного избегания (УРАИ) в Y-образном лабиринте.* Лабиринт представляет собой три рукава (отсека) размером 25 (длина) × 20 (ширина) × 25 (высота) см из белого непрозрачного пластика, соединенных под углом 120 градусов.

В каждом отсеке установлены: управляемый светодиодный светильник, обеспечивающий освещенность 80 лк/см<sup>2</sup>, управляемый источник звука различной частоты, и электропол, позволяющий стимулировать крысу импульсами с частотой 4–5 Гц энергией 0.004 Дж.

Методика основана на выработке классического условного рефлекса активного избегания, но реализация в данной установке позволяет также учитывать пространственную ориентацию (за-

**Таблица 1.** Параметры типологизации крыс  
**Table 1.** Parameters of rats typologization

Параметр\Группа	общая	А	Е	С	К
Время среднее	278	234	296	278	234
Входы	2.8	6.1	1	2.8	7.0
Время медиана	288	233	296	278	232

давая “правильное” направление перехода) и использовать различные стимулы и их сочетания (например, по звуковому сигналу крыса переходит по часовой стрелке, по световому – против), формируя достаточно сложные модели дискриминантного поведения, т.е. вырабатывать дифференцировочные условные рефлексы (УР).

Крысу высаживают в произвольный отсек, после чего в отсеке загорается свет и начинается отсчет времени (6 с). Если крыса не успевает перейти в отсек, следующий по часовой стрелке от того, в котором она находится, во всех отсеках, кроме “нужного”, включается электростимуляция, вынуждающая ее совершить переход именно в “нужный”, хотя бы и путем случайного обхода. Таким образом, в отличие от стандартной методики УРАИ с “челночной камерой”, формируемый рефлекс сложнее и включает в себя пространственную ориентацию и дискриминантное поведение.

Проводилось четыре последовательных дня по 15 сеансов обучения, подсчитывалось количество “успешных” (без включения электропола) переходов, среднее время от включения света до совершения перехода (в случае “успешных” переходов), среднее время от включения электропола до совершения перехода в нужный отсек (в случае “неуспешных” переходов), а также число межсигнальных реакций – спонтанных переходов между отсеками в период, когда никакой сигнал не подается (10 с между сочетаниями).

*Водный тест Морриса*

Водный тест (лабиринт) Морриса предназначен для исследования пространственной памяти и ориентации животных. Подробно методика была описана в предыдущих публикациях [10, 11, 15].

Использовали стандартную установку диаметром 150 см, расположенную в полузатемненной комнате с освещением по периметру, что исключает наличие ярко выраженных ориентиров. Тестирование записывалось на видео для последующей обработки в ПО Bonsai (Open Ephys, США), определяющем временные характеристики прохождения теста, скорость, манеру поведения крысы.



**Рис. 1.** Расположение электродов в черепе животного.  
**Fig. 1.** The location of the electrodes in the animal's skull.

#### *Методы электроэнцефалографических (ЭЭГ) исследований*

Для анализа возможных электрофизиологических изменений в работе головного мозга животных была проведена рутинная суммарная запись ЭЭГ. Крысам после облучения, по достижению веса 350–400 г, проводили операцию для вживления интеркорниальных энцефалографических электродов. Животное закрепляли в стереотаксической установке, операция происходила под общим наркозом (хлоралгидрат 350 мг/кг, концентрация 85 мг/мл). Голова крысы скальпировалась, после чего происходили очистка и сушка черепа. Электроды представляли собой позолоченные винты, диаметром полтора мм, закреплялись внутри кости с помощью пластмассы холодной быстрой полимеризации протакрил.

Электроды располагались в областях:

- префронтальной коры – 2шт. (координаты  $1 \times 3$  мм от Брегмы);
- моторной коры – 1 шт. ( $1 \times 1.5$  мм от Брегмы);
- лимбической коры – 1 шт. ( $1 \times 3$  мм от Брегмы).

Референтный и земляной электроды объединены и расположены в затылочной кости. Было прооперировано и записано девять животных, по три из групп А, С и Е.

Для записи ЭЭГ использовали чип Neurologger (TSE, Германия), позволяющий проводить беспроводную запись, минимизируя внешнее воздействие на животных.

Пример прооперированного животного и схема расположения электродов представлены на рис. 1.

Спустя период адаптации была произведена регистрация ЭЭГ с помощью чипа Neurologger, запись проходила в свободном поведении в до-

машней клетке в течение одного часа, все животные записывались в один день, частота оцифровки составила 565 Гц. Регистрация ЭЭГ происходила спустя 6 мес. после облучения. Последующую обработку записей проводили в программах Powergraph3, Excel и Statistica. Полученные записи очищались от артефактов, разделялись в зависимости от физиологического состояния животного, после чего резались на отрезки от 7 до 10 с. Из полученных отрезков проводили построение спектров мощности и амплитуды. Значения амплитуды и частот спектра сохранялись для программы Excel, после чего статистически и математически обрабатывались. В итоге по каждому из отрезков был построен спектр мощности с определением амплитудно-частотных характеристик по двум наиболее выраженным пикам. Был произведен общий анализ средних амплитуд и частот для определения наличия тенденций каналов префронтальной коры. Последующий анализ проводили в рамках диапазонов основных ритмов. Анализировались средние частоты и амплитуды в рамках  $\delta$ - (1–4 Гц),  $\tau$ - (5–7 Гц) и  $\alpha$ - (8–12 Гц) ритмов.

Всего было прооперировано и записано 15 животных, в связи с техническими особенностями работы чипов Neurologger пригодными для описания оказались семь записей – три контрольных и четыре экспериментальных животных. Анализировались значения, полученные для префронтальной коры как наиболее важной для реализации высших когнитивных функций.

Для оценки достоверности результатов был применен непараметрический критерий Уилкоксона.

#### *Методы нейрохимических исследований*

Для нейрохимических исследований контрольных и подвергнутых экспериментальным воздействиям крыс декапитировали через 10 сут, выделяли соответствующие структуры мозга: префронтальную кору, прилежащее ядро (nucleus accumbens), гипоталамус, гиппокамп и стриатум. Структуры мозга замораживали в жидком азоте и взвешивали. Выделенные структуры гомогенизировали при  $+4^\circ\text{C}$  в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым пестиком (0.2 мм) при скорости вращения пестика 3000 об/мин. В качестве среды гомогенизации и выделения использовали 0.1 Н  $\text{HClO}_4$  с добавлением внутреннего стандарта ДОБА (3,4-диоксибензиламин) – вещество катехоламиновой природы, но не встречающегося в нативной ткани, в концентрации 0.5 нмоль/мл. Прилежащее ядро гомогенизировали в 40 объемах, остальные структуры мозга – в 20 объемах среды выделения. Пробы центрифугировали при  $+4^\circ\text{C}$ , 10000 g в течение 15 мин. Супернатант использовался в дальнейшем для определения моноаминов и их метаболитов.

Концентрацию моноаминов и их метаболитов определяли с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ионпарная хроматография) с электрохимической детекцией на хроматографе LC-304T (BAS, WestLafayette, США) с инжектором Rheodyne 7125, петля для нанесения образцов – 20 мкл. Изучаемые вещества разделяли на обращенно-фазной колонке Repro-Sil-Pur, ODS-3, 4 × 100 мм, 3 мкм (Dr. Majsch GMBH, “Элсико”, Москва). Насос PM-80 (BAS, США), скорость подвижной фазы 1.0 мл/мин, при давлении 200 атм. Мобильная фаза: 0.1 моль/л цитратно-фосфатный буфер, содержащий 1.1 ммоль/л октансульфоновой кислоты, 0.1 ммоль/л ЭДТА и 9% ацетонитрила (pH = 3.0). Скорость потока 1 мл/мин. Измерение проводили с помощью электрохимического детектора LC-4B (BAS, США) на стеклоугольном электроде (+0.85 V) против электрода сравнения Ag/AgCl. Регистрация образцов проводилась с применением аппаратно-программного комплекса МУЛЬТИХРОМ 1.5 (АМПЕРСЕНД). Все использованные для анализа реактивы были высокой степени чистоты: о.с.ч., х.ч. или analyticalgrade. Для калибровки хроматографа использовали смеси рабочих стандартов определяемых веществ в концентрации 500 пмоль/мл. Величины концентрации моноаминов в опытных образцах рассчитывали методом “внутреннего стандарта”, исходя из отношений площади пиков в стандартной смеси и в образце. Определяли содержание норадреналина (НА), дофамина (ДА) и его метаболитов – 3,4-диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК) и гомованилиновой кислоты (ГВК), 3-метокситирамина (3-МТ), серотонина (5-окситриптамина, 5-ОТ) и его метаболита – 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК) в пяти структурах мозга: префронтальная кора, прилежащее ядро (nucleus accumbens), гипоталамус, гиппокамп и стриатум.

Результаты нейрохимических исследований выражали в виде средних величин ± стандартная ошибка среднего. Полученные результаты анализировали с помощью односторонней ANOVA и posthoc тест Дункана. Статистически значимым результатом считали величину  $p <$  или  $= 0.05$ . (в таблицах выделены жирным шрифтом). Величину  $p$  от 0.05 до 0.099 считали тенденцией изменений (в таблицах выделены жирным *Italic*).

Программа эксперимента утверждена Комиссией по биоэтике ГНЦ РФ – ИМБП РАН.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### *Исследование тревожности животных в приподнятом крестообразном лабиринте (ПКЛ)*

Тестирование всех четырех групп было проведено дважды – в начале и в конце эксперимента, по стандартной методике приподнятого кресто-

образного лабиринта продолжительностью 5 мин. Регистрировались количество перебежек и выходов на открытое пространство, время до первой перебежки и до выхода на открытое пространство, суммарное время нахождения на открытом пространстве.

В первом тесте обнаружилась разница между экспериментальными (А и Е) и контрольными (С и К) животными. Контрольные животные активнее выходили на открытое пространство (всего вышли 14 из 16 контрольных и семь из 16 экспериментальных), проводили там больше времени (10.5 с против 3.7 с соответственно).

Аналогичная разница наблюдалась между группами А и Е: количество вышедших на открытое пространство составило два и пять, суммарное время выхода – 3.3 и 4.0 с соответственно. Результаты показаны на рис. 2.

Вместе с тем статистически достоверных различий между группами в числе перебежек, среднем количестве выходов, латентных периодах обнаружить не удалось.

Во втором тесте выходов на открытое пространство животные из групп С, Е и К не совершали, в группе А вышли только две крысы, поэтому данные о количестве выходов на открытое пространство можно считать случайными.

Вместе с тем число перебежек между рукавами лабиринта во втором тесте достоверно варьировалось: возбудимые крысы продемонстрировали большую активность, нежели тормозные, а облученные – нежели контрольные, что хорошо видно на графике (рис. 3).

### *Исследование когнитивных функций животных в Y-образном лабиринте*

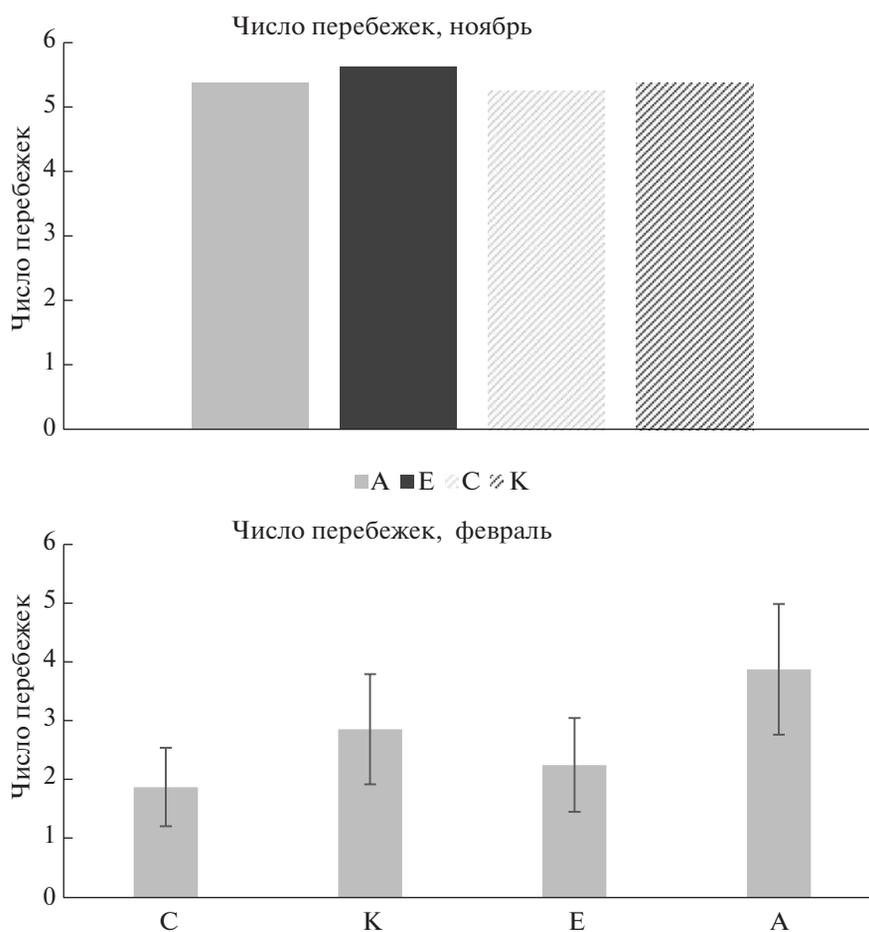
Для тестирования по методике УРАИ была выбрана одна из простейших схем, реализуемых в Y-лабиринте. Условным сигналом служил включающийся в отсеке, где находится крыса, свет; после условного сигнала у крысы было 6 с на переход в отсек, расположенный по часовой стрелке (из А в В, из В в С, из С в А). Если по истечении 6 с крыса не оказывалась в нужном отсеке, то во всех остальных отсеках (включая центральный Х) включается ток. Если по истечении 30 с крыса все же не перешла в требуемый отсек, регистрируется отказ от побежки. После перехода (отказа) включаются свет и ток во всех отсеках и следует 10-секундная пауза.

Обучение проводилось в течение пяти сеансов для каждой крысы, далее по 15 сеансов, в результате чего был сформирован исходный уровень обученности порядка 50% правильных переходов. Далее тестирование повторялось по одному дню с интервалом в месяц, по 15 сеансов для каждого животного, при этом регистрировались: количе-



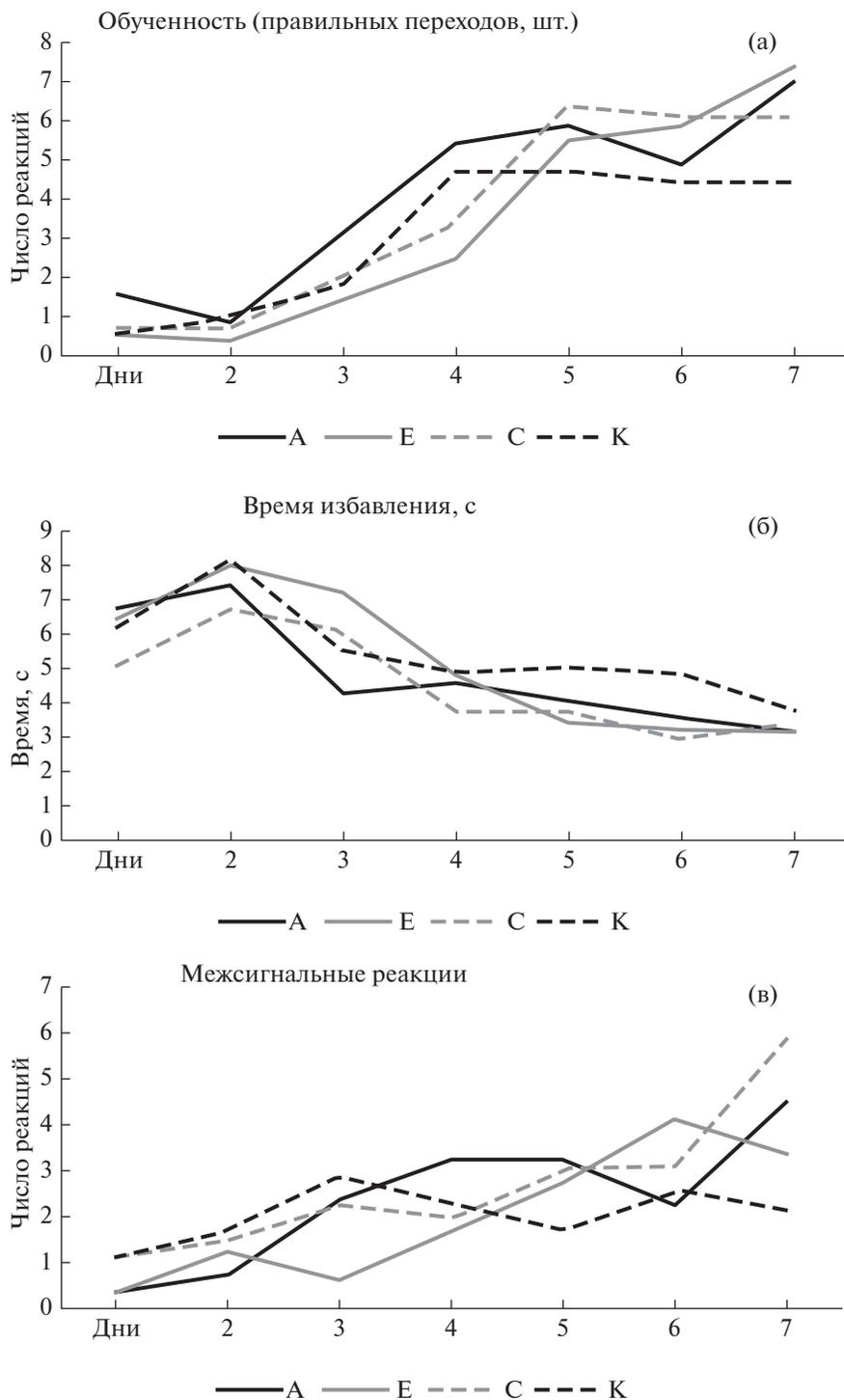
**Рис. 2.** Показатели выхода крыс в открытый участок ПКЛ, начало эксперимента.

**Fig. 2.** Indicators of the rats' output to the open elevated crucial maze (ECM) site, the beginning of the experiment.



**Рис. 3.** Число перебежек между отсеками лабиринта в начале и в конце эксперимента.

**Fig. 3.** The number of runs between the compartments of the ECM at the beginning and at the end of the experiment.



**Рис. 4.** Результаты обучения крыс в тесте УРАИ в течение всего тестирования.  
**Fig. 4.** The results of training rats in the conditioned reflex of active avoidance (CRAA) test during the entire test.

ство правильных переходов, время избегания (интервал между условным сигналом и правильным переходом; среднее по дню для животного), время избавления (интервал между шоковым сигналом и правильным переходом, среднее по дню

для животного), количество отказов, количество межсигнальных реакций.

Графики, отражающие рост обученности (количества правильных переходов) по группам, а также время избавления приведены на рис. 4.

Можно видеть, что возбудимые крысы группы А за первые четыре дня тестирования достигли уровня обученности 55%, превзойдя остальные группы. Аналогично возбудимые крысы группы К (контроль – “альтруисты”) статистически достоверно превосходили тормозных крыс групп С и Е по обоим параметрам – времени избавления и скорости обучения.

Однако при последующих тестированиях крысы группы А не только медленнее обучались, но и демонстрировали частичную утрату выработанного УРАИ; аналогичный результат показала группа К. Тормозные облученные крысы группы Е демонстрировали практически линейное улучшение показателей вплоть до уровня обученности 74%. В среднем облученные крысы из групп А и Е проходили тест практически идентично с контрольными, продемонстрировав преимущество только на последнем этапе эксперимента, т.е. спустя 3 мес. после воздействий.

Сходные результаты наблюдались в ранее проводившихся тестах УРАИ с использованием “челночной камеры” [15].

Также было подсчитано количество межсигнальных реакций (спонтанных переходов в условиях отсутствия раздражителей) как характеристика генерализованного возбуждения животных, соответствующий график приведен на рис. 4, в.

Значимых различий между группами животных не было выявлено, однако можно видеть общий постепенный рост числа спонтанных перебежек, указывающий, по-видимому, на сохранение повышенной возбудимости животных.

#### *Исследование пространственной памяти и ориентации животных в водном тесте Морриса*

Тестирование в водном лабиринте Морриса (далее – ВЛМ) производилось в течение 8 дней. В первые четыре дня платформа была установлена на одном месте, крыс запускали в лабиринт по три попытки в день, с интервалом между попытками 80–90 мин, максимальная длительность одной попытки – 60 с. Животное запускалось на каждую попытку с нового места, соответственно, ориентирование производилось по внешним ориентирам. Регистрировалось время, затраченное на отыскание платформы, если 60 с не хватало для отыскания, то экспериментатор показывал платформу указкой, а время засчитывалось как 60 с.

На пятый день платформа была перемещена на другое место и в течение 4 дней производилась переделка выработанного навыка при всех прочих идентичных условиях. Все тесты записывались на видео и анализировались при помощи ПО Bonsai.

Ввиду задействования в ранее описанной методике УРАИ элементов пространственного ори-

ентирования и, как следствие, заметной схожести методик УРАИ и ВЛМ в части гиппокамп-зависимых форм поведения, полученные результаты оказались ожидаемо схожи. Следует, однако, напомнить, что испытания по методике УРАИ проводились на протяжении 6 мес. и отражают процессы восстановления ЦНС после воздействий, тогда как тест ВЛМ был выполнен фактически единоразово и больше отражает установившееся состояние ЦНС и отдаленные последствия воздействий.

Результаты обучения в ВЛМ (первые четыре дня) приведены на рис. 5, а. Значимых различий не выявляется, однако можно заметить, что возбудимые крысы групп А и К обучаются несколько быстрее тормозных Е и С.

Переделка навыка в ВЛМ (рис. 5, б) является более сложным тестом и ожидаемо привела к более интересному результату. В частности, достоверно выявлена разница между группами А и Е, причем тормозные крысы группы Е обучались успешнее, как и в тесте УРАИ. Также из графика видно, что в первый день после перемещения платформы возбудимые крысы справились с задачей ее отыскания лучше – это указывает на их более высокую активность в поиске, в частности, меньшей процент дрифта и большую среднюю скорость (по данным, полученным с помощью видеонаблюдения).

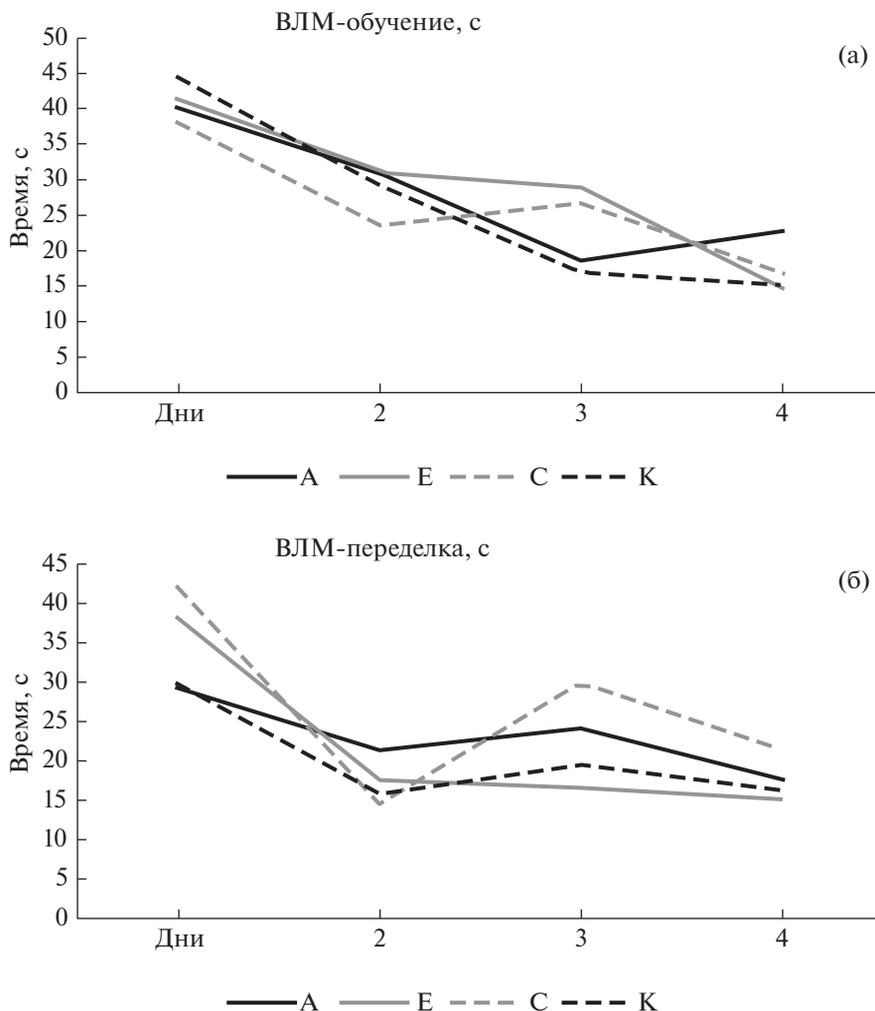
#### *Энцефалографические исследования*

Регистрация ЭЭГ происходила спустя 7 мес. после облечения.

После пятидневного периода адаптации после операции производилась рутинная суммарная запись ЭЭГ в свободном поведении в домашней клетке в течение 1 ч. Частота оцифровки составила 565 Гц. Последующая обработка записей произведена в программах Powergraph3, EDFbrowser, Excel10 и Statistica8. Для визуального сравнения всех часовых записей строились спектральные плотности в программе EDFbrowser. Далее выбиравались и анализировались отрезки без артефактов длительностью 10 с. По данным отрезкам строились спектры мощности, определялись частота и амплитуда наибольшего пика. Значения амплитуд и частот сохранялись для дальнейшей обработки в Excel. Общий анализ средних амплитуд и частот позволил определить наличие изменений в префронтальной коре. Последующий анализ проводился в рамках диапазонов основных ритмов:

- $\delta$  (1–4 Гц);
- $\tau$  (5–7 Гц);
- $\alpha$  (8–12 Гц).

Также оценивалась процентная доля каждого во всей записи. Наиболее важны значения, полу-



**Рис. 5.** Первоначальное обучение и переделка навыка в водном лабиринте Морриса.

**Fig. 5.** Initial training and reworking of the skill in the Morris water maze.

ченные для префронтальной коры, как ключевого участка реализации высших когнитивных функций.

У всех животных наблюдалась визуально нормальная картина ЭЭГ: при визуальном анализе записей никаких отклонений на ЭЭГ обнаружено не было, абсансная активность отсутствовала. Визуальный анализ спектральных плотностей показал предположительно более частую смену ритмов у облученных животных. Примеры спектральной плотности представлены на рис. 6 (здесь и далее – сигнал из области префронтальной коры).

Пример спектра, построенного на основе отрезка записи без артефактов длительностью в 10 с, представлен на рис. 7 (вверху дан общий вид окна программы, далее общий вид графика сигнала и на нижнем графике – спектр крупно; хорошо виден пик на частоте  $\alpha$ -ритма 8.33 Гц).

Сравнение средних амплитуд и частот по записям, очищенным от артефактов, но не разделенным на ритмы, представлен на рис. 8. Легко видеть статистически значимые различия между группами животных С (контроль), А (альтруисты) и Е (эгоисты).

В связи с большим разбросом данных в группе Е и наличием большого количества записей с артефактами, для анализа спектров в рамках различных ритмов, группы А и Е объединены в одну общую группу “облученные животные”.

При сравнении процентного соотношения преобладающих ритмов (в рамках всех записей животных каждой из групп) значимых различий не было обнаружено. Наблюдались незначимые тенденции, заключающиеся в увеличении доли  $\delta$ -ритма у облученных животных по сравнению с контролем.

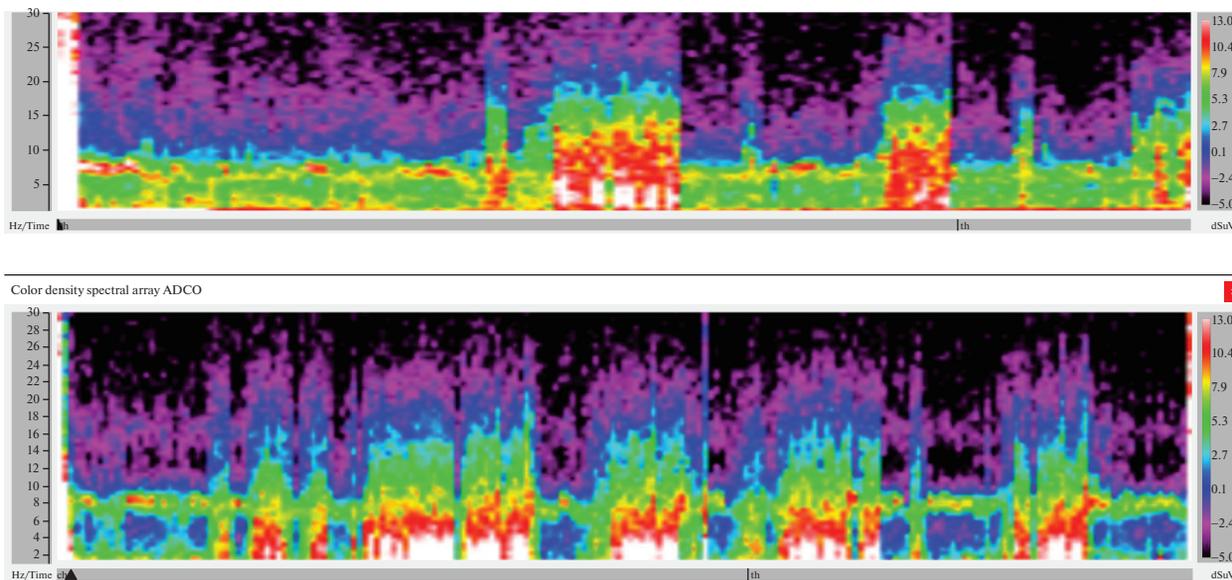


Рис. 6. Спектральная плотность записи контрольного животного.

Fig. 6. Spectral density of the recording of the control animal.

Также следует отметить смену доминирующего ритма в группе облученных животных. Так, у контрольных животных доминирующим оказывается  $\tau$ -ритм, в то время как у облученных животных доминирует  $\delta$ -ритм.

При сравнении средних значений амплитуд и частот в диапазонах различных ритмов наблюдаются статистически значимые изменения для  $\delta$ - и  $\tau$ -ритмов, показанные на рис. 9–11. Наблюдались незначимые тенденции, заключающиеся в увеличении доли  $\delta$ -ритма у облученных животных по сравнению с контролем.

Также следует отметить смену доминирующего ритма в группе облученных животных. Так, у контрольных животных доминирующим оказывается  $\tau$ -ритм, в то время как у облученных животных доминирует  $\delta$ -ритм.

При сравнении средних значений амплитуд и частот в диапазонах различных ритмов наблюдались статистически значимые изменения для  $\delta$ - и  $\tau$ -ритмов, показанные на рис. 10 и 11.

Видно, что средняя частота  $\delta$ -ритма у облученных животных меньше, при этом амплитуда больше. В то же время для  $\tau$ -ритма у облученных животных ниже и частота, и амплитуда.

В области  $\alpha$ -ритма наблюдалось небольшое снижение частоты (у облученных) и выраженное снижение амплитуды. Поскольку процент  $\alpha$ -ритма относительно всех остальных других ритмов наименьший, различие в частотах получается незначимым.

Значимое смещение частот в области всех ритмов свидетельствует о нарушении электрофизио-

логической активности головного мозга, что соотносится с исследованием группы Агуари [17]. Кроме того, наблюдаются некоторые незначимые тенденции, заключающиеся, в частности, в увеличении доли  $\delta$ -ритма у облученных животных по сравнению с контролем.

#### Нейрохимические исследования

Нейрохимические исследования включали следующие показатели (концентрации нейромедиаторов и их метаболитов):

- норадреналина (NA, НА);
- дофамина (DA, ДА);
- серотонина (5-НТБ 5-ОТ);
- 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-НИАА, 5-ОИУК);
- гомованилиновой кислоты (HVA, ГВК);
- 3-метокситирамина (ЗМТ);
- диоксифенилуксусной кислоты (DOPAC, ДОФУК).

Для исследования были взяты фронтальная кора, гипоталамус и таламус головного мозга.

Наиболее существенные различия между экспериментальными группами были обнаружены в таламусе в концентрациях:

- норадреналина (2.804 гр. Е, 3.139 гр. А, 2.412 гр. С,  $t$ -критерий 0.016);
- ГВК (0.088, 0.181 и 0.092 соответственно,  $t$ -критерий 0.008).

В свою очередь, соотношения концентрации метаболитов к исходным веществам составляют:

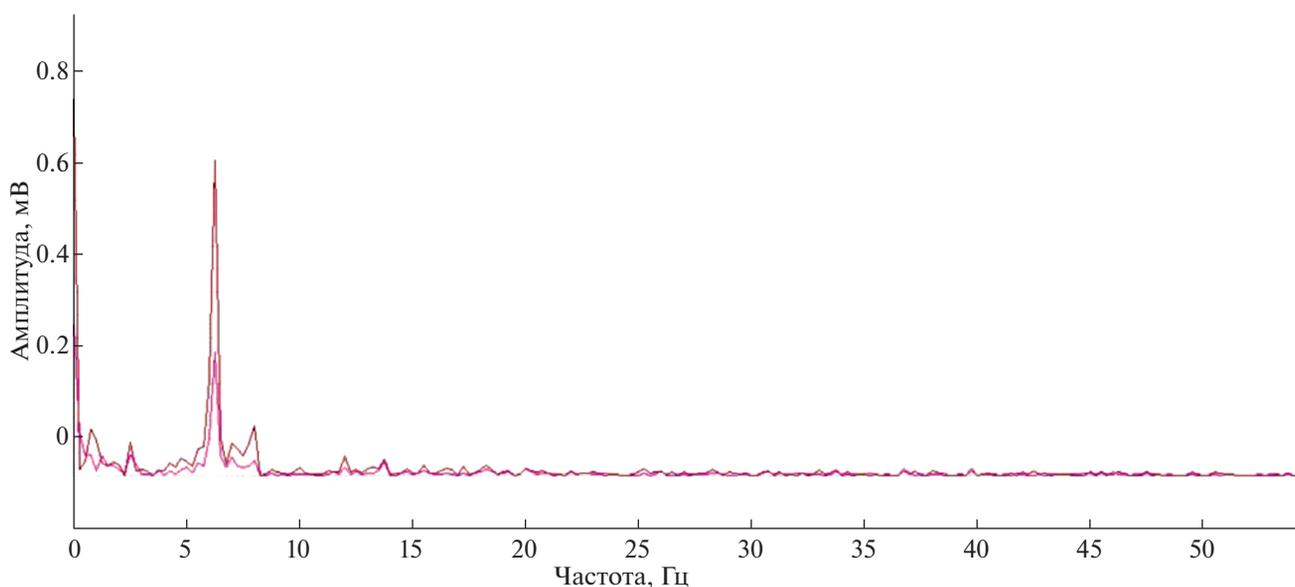
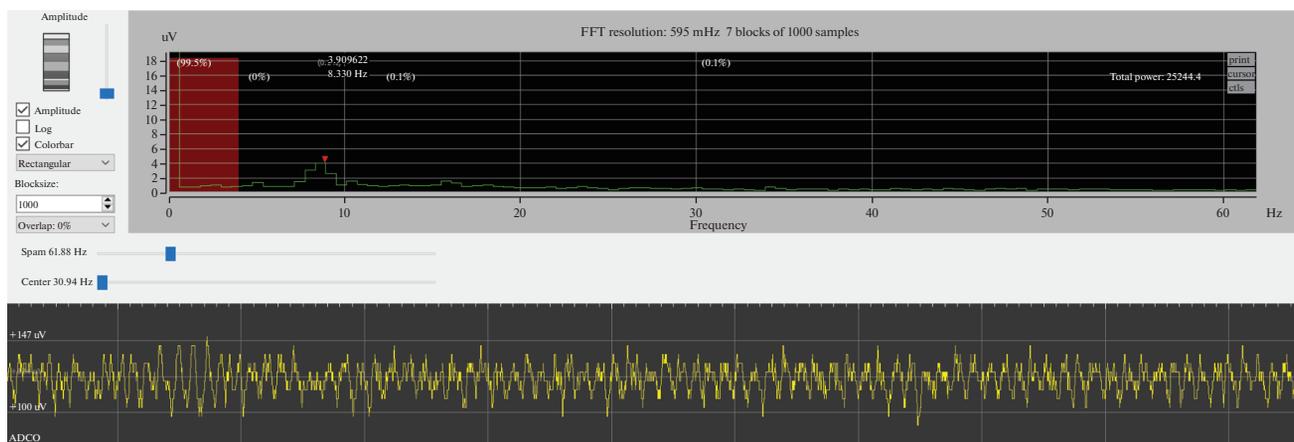


Рис. 7. Примеры спектров и отрезок записи длительностью 10 с.  
 Fig. 7. Examples of spectra and a 10-second recording segment.

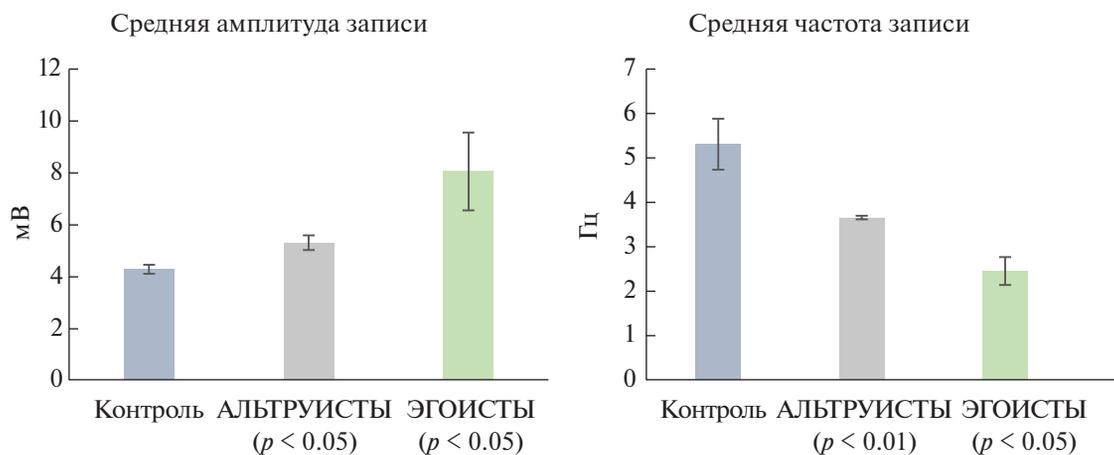


Рис. 8. Сравнение средних амплитуд и частот по записям.  
 Fig. 8. Comparison of average amplitudes and frequencies by recordings.

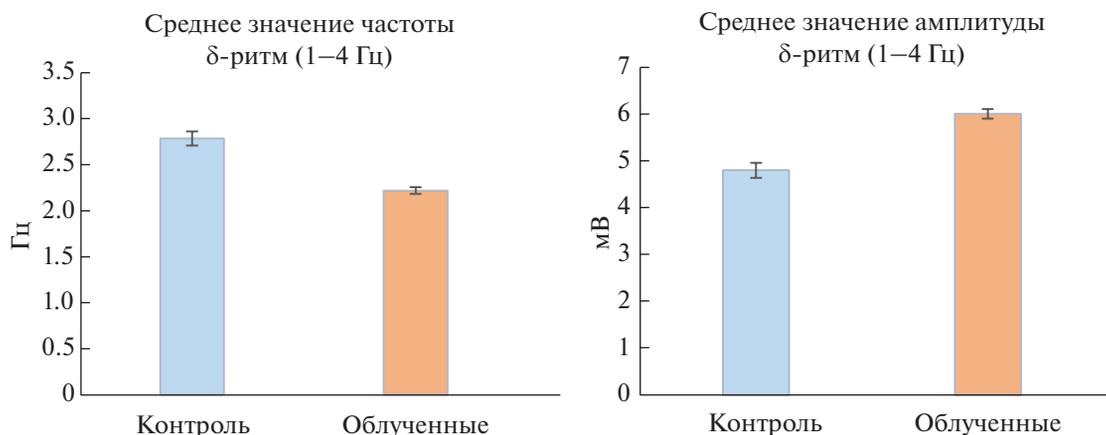


Рис. 9. Средние значения частот и амплитуд в области  $\delta$ -ритма.

Fig. 9. Average values of frequencies and amplitudes in the  $\delta$ -rhythm region.

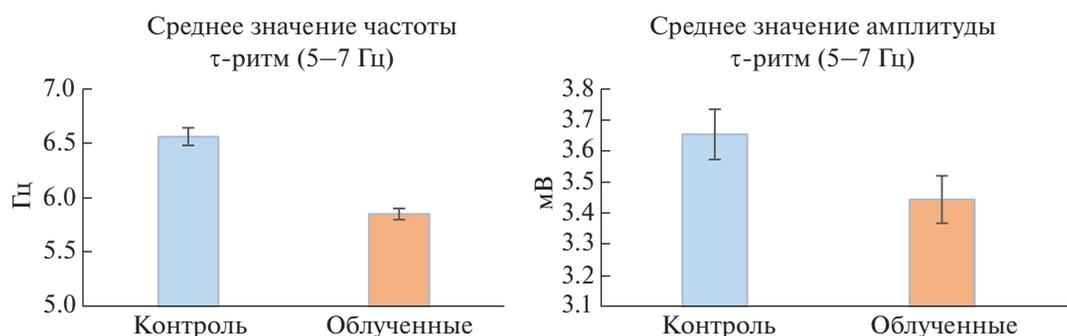


Рис. 10. Сравнение средних частот и амплитуд  $\tau$ -ритма.

Fig. 10. Comparison of the average frequencies and amplitudes of the  $\tau$ -rhythm.

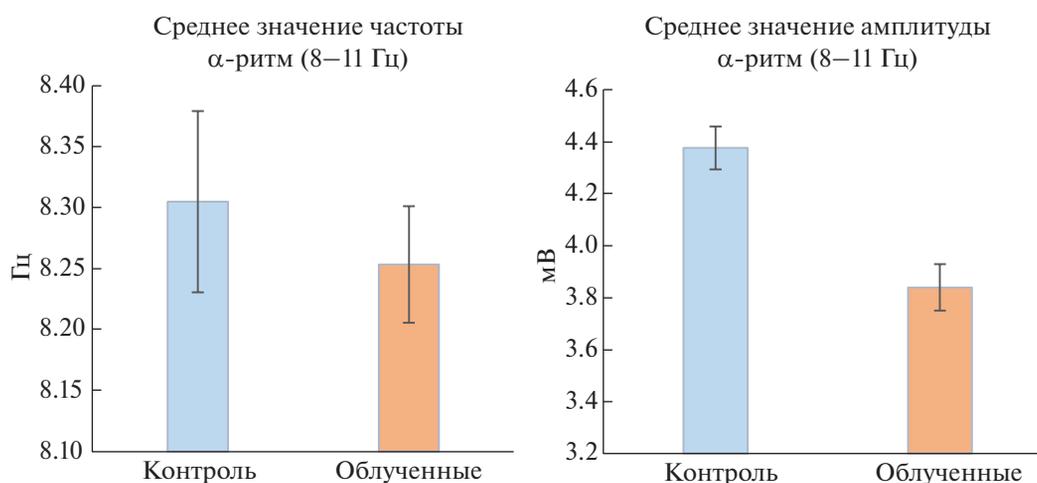


Рис. 11. Сравнение средних частот и амплитуд  $\alpha$ -ритма.

Fig. 11. Comparison of the average frequencies and amplitudes of the  $\alpha$ -rhythm.

– ГВК/ДА – 0.085, 0.239 и 0.118 у групп Е, А и С соответственно;

– 5-ОИУК/5-ОТ – 0.637, 0.719 и 0.580 соответственно.

Более полные данные приведены в табл. 2 (сверху вниз – группы E, A и C).

ОБСУЖДЕНИЕ

Тестирование крыс в ПКЛ показало, что экспериментальные воздействия приводят к повышению тревожности, различия между типологическими группами отчетливо выявляются в данном тесте. Эти различия, как между экспериментальными и контрольными животными, так и между крысами разных типологических групп, сохраняются через 6 мес. после экспериментальных воздействий.

По-видимому, такие результаты свидетельствуют, во-первых, о более высокой динамике нервных процессов у крыс группы А в сравнении с группой E, а во-вторых – о влиянии в долгосрочной перспективе регенерационных процессов в нервной ткани у облученных крыс (в сравнении с необлученными С и К).

Как результаты исследования поведения крыс в “открытом поле”, так и возрастающее число межсигнальных реакций при воспроизведении УРАИ в Y-образном лабиринте свидетельствуют о длительном сохранении повышенного уровня возбуждения в результате примененных воздействий. Этим можно объяснить также более успешное сохранение и воспроизведение УРАИ и более успешное обучение в тесте Морриса крыс с преобладанием торможения.

Исходя из проведенного анализа, мы видим существенные изменения в электрофизиологической активности мозга крыс даже спустя полгода после облучения. Наличие подобной длительной чувствительности было показано у людей, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения. Заметим также, что пороговыми для отдаленных последствий считаются относительно небольшие дозы в 0.1–1.3 Гр. [15, 16].

Стоит отметить, что Л.П. Жаворонков и соавт. отмечают изменения коэффициента когерентности у лиц, подвергшихся ионизирующему облучению, таким образом в дальнейшем стоит использовать более детальную запись ЭЭГ с множествами отведений, для оценки и этого параметра [15].

По-видимому, животные группы А, более возбудимые и проявляющие более высокий уровень “социализации” в камере Симонова, обладают повышенным метаболизмом нейромедиаторов. Также на метаболизм, скорее всего, влияют (в сторону ускорения) процессы, вызванные регенерацией нервной ткани после облучения. Повышенный метаболизм, в свою очередь, ускоряет как формирование навыков – в частности, в тесте УРАИ – так и их утрату.

Более высокий метаболизм нейромедиаторов должен провоцировать и более высокий общий

**Таблица 2.** Содержание моноаминов в таламусе, нмоль/г ткани; сверху вниз – группы E, A и C  
**Table 2.** The content of monoamines in the thalamus, nmol/g of tissue; from top to bottom – groups E, A and C

Масса	NA	DOPAC	DA	5-HIAA	HVA
83	3.3757	0.1622	1.1377	1.6255	0.1746
127	2.5028	0.1281	0.7257	1.2549	0.0570
126	2.8057	0.1728	1.1002	1.9206	0.1126
112	2.5307	0.1938	1.1106	1.6286	0.0069
x средн	2.804	0.164	1.019	1.607	0.088
ст.ош.ср.	0.175	0.012	0.085	0.118	0.031
T-тест	0.195	0.072	0.096	0.243	0.905
103	3.3447	0.1280	0.9614	2.1010	0.2392
122	2.9114	0.1373	0.7984	1.7370	0.1555
98	3.4952	0.1758	0.7656	2.1374	0.2086
108	3.2814	0.1460	0.6935	1.5838	0.1662
133	2.6646	0.1185	0.5631	1.2861	0.1350
x средн	3.139	0.141	0.756	1.769	0.181
ст.ош.ср.	0.137	0.009	0.058	0.143	0.017
T-тест	0.016	0.396	0.714	0.086	0.008
129	2.5251	0.1318	0.8962	0.9240	0.1278
167	1.9751	0.0939	0.6148	1.2465	0.1055
127	2.4687	0.1415	0.7751	1.6513	0.0349
145	3.0091	0.1183	0.6774	1.5526	0.0788
139	2.0808	0.1558	1.0008	1.4571	0.1147
x средн	2.412	0.128	0.793	1.366	0.092
ст.ош.ср.	0.164	0.009	0.063	0.116	0.015

тонус организма, что хорошо согласуется с данными, полученными в ходе тестов, не требующих обучения, таких как приподнятый крестообразный лабиринт.

Изменения в концентрации моноаминов и их метаболитов в структурах мозга (при декапитации животных после предпринятых воздействий) были показаны многократно, в частности, после облучения крыс ионами углерода <sup>12</sup>C [7–10], но не в качестве отдаленных последствий. Аналогичные изменения происходили у крыс через 1 сут после облучения протонами высоких энергий как на пролете [19], так и в пике Брэгга [20].

Таким образом, отдаленные последствия примененных воздействий в наибольшей степени сказались на активности дофаминергической системы в таламусе. Таламус осуществляет важные функции, связанные с ретрансляцией информации, поступающей от сенсорных систем к коре, а также играет важную роль в регуляции концентрации внимания. Это необходимо учитывать

при оценке риска возможных нарушений в ЦНС в межпланетном полете.

Полученные данные хорошо сочетаются с данными работы [18], демонстрирующей существенные различия в метаболизме дофамина и серотонина у мышей в зависимости от социальной активности.

Работа выполнена в рамках темы РАН 65.2.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Rabin B.M., Joseph J.A., Shukitt-Hale B.* Heavy particle irradiation, neurochemistry and behavior: threshold, dose-response curves and recovery of function // *Adv. Space Res.* 2004. № 33. P. 1330–1333.
2. *Rabin B.M., Joseph J.A., Shukitt-Hale B.* A longitudinal study of operant responding in rats irradiated when 2 months old // *Radiat. Res.* 2005. № 64. P. 552–555.
3. *Britten R.A., Davis L.K., Johnson A.M. et al.* Low (2 cGy) doses of  $^{56}\text{Fe}$ -particle radiation leads to a persistent reduction in the spatial learning ability of rats // *Radiat. Res.* 2012. № 177. P. 146–151.
4. *Machida M., Lonart G., Britten A.* Low (60 cGy) doses of  $^{56}\text{Fe}$  HZE-particle radiation lead to a persistent reduction in the glutamatergic readily releasable pool in rat hippocampal synaptosomes // *Radiat. Res.* 2010. № 174. P. 618–623.
5. *Shtemberg A.S., Lebedeva-Georgievskaya K.B., Matveeva M.I. et al.* Effect of space flight factors simulated in ground-based experiments on the behavior, discriminant learning, and exchange of monoamines in different brain structures of rats // *Biol. Bull.* 2014. V. 41. № 2. P. 161–167.
6. *Штемберг А.С.* Проблемы экспериментального исследования комбинированного действия факторов космического полета на функции организма животных // *Рос. физиол. журн.* 2014. Т. 100. № 10. С. 1152–1168. [*Shtemberg A.S.* Problems of experimental research of the combined effect of space flight factors on the functions of the animal body // *Rus. Physiol. J.* 2014. V. 100. № 10. P. 1152–1168 (In Russ.)]
7. *Kokhan V.S., Matveeva M.I., Bazyan A.S. et al.* Combined effects of antiorthostatic suspension and ionizing radiation on the behaviour and neurotransmitters changes in different brain structures of rats // *Behav. Brain Res.* 2017. № 320. P. 473–483.
8. *Ushakov I.B., Shtemberg A.S., Krasavin E.A. et al.* Effects of space radiation and combined impact of radiation and other spaceflight factors on CNS in model experiments on animals // *Biol. Bull. Rev.* 2019. V. 9. P. 93–104.
9. *Kokhan V.S., Lebedeva-Georgievskaya K.B., Kudrin V.S. et al.* An investigation of the single and combined effects of hypogravity and ionizing radiation on brain monoamine metabolism and rats' behavior // *Life Sci. Space Res.* 2019. V. 20. № 1. P. 12–19.
10. *Лебедева-Георгиевская К.Б., Кохан В.С., Шуртакова А.К. и др.* Нейробиологические эффекты комбинированного воздействия антиортостатического вывешивания и ионизирующих излучений различного качества // *Нейрохимия.* 2019. Т. 36. № 3. С. 254–264. [*Lebedeva-Georgievskaya K.B., Kohan V.S., Shurtakova A.K. et al.* Neurobiological effects of combined exposure to anti-orthostatic hanging and ionizing radiation of various quality // *Neurochemistry.* 2019. V. 36. № 3. P. 254–264 (In Russ.)]
11. *Григорьев Ю.Г.* Лучевые поражения и компенсация нарушенных функций. М.: Госатомиздат, 1963. 123 с. [*Grigoriev Yu.G.* Radiation injuries and compensation of impaired functions. M.: Gosatomizdat, 1963. 123 p. (In Russ.)]
12. *Лившиц Н.Н.* Влияние ионизирующих излучений на функции центральной нервной системы. М.: Изд-во АН СССР, 1961. 145 с. [*Livshits N.N.* Influence of ionizing radiation on the functions of the central nervous system. M.: Publishing house of the USSR Academy of Sciences, 1961. 145 p. (In Russ.)]
13. *Ушаков И.Б., Штемберг А.С., Шафиркин А.В.* Реактивность и резистентность организма млекопитающих. Принципы формирования, регуляции и прогнозирования. М.: Наука, 2007. 493 с. [*Ushakov I.B., Shtemberg A.S., Shafirkin A.V.* Reactivity and resistance of the mammalian organism. Principles of formation, regulation and forecasting. M.: Nauka, 2007. 493 p. (In Russ.)]
14. *Shtemberg A.S., Perevezentsev A.A., Lebedeva-Georgievskaya K.B. et al.* The Role of Typological Characteristics of Higher Nervous Activity in Rats in the Neurobiological Effects of Combined Exposure to an Antiorthostatic Suspension,  $\gamma$ -Rays, Protons, and Carbon 12C Ions // *Biol. Bull.* 2020. V. 47. № 11. P. 37–45.
15. *Жаворонкова Л.А., Лаврова Т.П., Белостоцкий А.В.* Пострадиационные нарушения регионарно-частотных характеристик когерентности ЭЭГ при когнитивной деятельности (последствия аварии на Чернобыльской АЭС) // *Журн. высш. нервн. деятельности им. И.П. Павлова.* 2006. № 2. С. 193–201. [*Zhavoronkova L.A., Lavrova T.P., Belostotsky A.V.* Deviation violations of regional frequency characteristics of EEG coherence in cognitive activity (consequences of the Chernobyl accident) // *Journal of Higher Nervous Activity named after I. P. Pavlov.* 2006. № 2. P. 193–201 (In Russ.)]
16. *Логановский К.Н.* Неврологические и психопатологические синдромы в отдаленном периоде воздействия ионизирующих излучений // *Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.* 2000. № 4. С. 15–21. [*Loganovsky K.N.* Neurological and psychopathological syndromes in the long-term period of exposure to ionizing radiation // *Journal of Neurology and Psychiatry named after S.S. Korsakov.* 2000. № 4. P. 15–21 (In Russ.)]
17. *Aguiar L.A.A., Silva I.M.S., Fernandes T.S., Nogueira R.A.* Long-term correlation of the electrocorticogram as a bioindicator of brain exposure to ionizing radiation // *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2015. V. 48. № 10. P. 915–922.
18. *Карпова И.В., Михеев В.В., Бычков Е.Р. и др.* Асимметрия в уровнях моноаминов в головном мозге мышей линии BALB/c, выращенных в условиях социальной изоляции. // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.* 2012. Т. 10. № 4. [*Karpova I.V., Mikheev V.V., Bychkov E.R. et al.* Asymmetry in the levels of monoamines in the brain of BALB/c mice raised in conditions of social isolation //

- Reviews of Clinical Pharmacology and Drug Therapy. 2012. V. 10. № 4 (In Russ.)]
19. Штемберг А.С., Базян А.С., Лебедева-Георгиевская К.Б. и др. Влияние облучения протонами высокой энергии на поведение крыс и его нейрохимические механизмы // Авиакосм. и экол. медицина. 2013. Т. 47. № 6. С. 54–60. [Shtemberg A.S., Bazyan A.S., Lebedeva-Georgievskaya K.B. et al. The effect of high-energy proton irradiation on rat behavior and its neurochemical mechanisms // Aviakosm. and Ecol. the Medicine. 2013. V. 47. № 6. P. 54–60 (In Russ.)]
20. Shtemberg A.S., Kokhan V.S., Kudrin V.S. et al. The effect of high-energy protons in Bragg peak on the exchange of monoamines in some brain structures // Neurochem. J. 2015. V. 9. № 1. P. 66–72.

## Long-Term Neurobiological Effects of Combined Exposure to Anti-Orthostatic Hanging and Ionizing Radiation

K. B. Lebedeva-Georgievskaya<sup>a</sup>, A. A. Perevezentsev<sup>a</sup>, O. S. Kuznetsova<sup>a</sup>, V. S. Kudrin<sup>a,b</sup>,  
A. A. Masanova<sup>a</sup>, and A. S. Shtemberg<sup>a,#</sup>

<sup>a</sup>State Scientific Center of the Russian Federation – Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

<sup>b</sup>V.V. Zakusov Research Institute of Pharmacology Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia

#E-mail: andrei\_shtemberg@mail.ru

A study of the long-term consequences of the combined effect of synchronous quasi-chronic  $\gamma$ -irradiation and anti-orthostatic suspension (AOS) with further irradiation of the head of rats with carbon  $^{12}\text{C}$  ions, taking into account the typological characteristics of higher nervous activity (HNA) of experimental animals, was carried out. It is shown that within 6 months the integrative effects of the studied effects are quite successfully leveled. At the same time, significant differences related to the typological characteristics of animals persist in the long term. The study of the spectral and amplitude-frequency characteristics of the EEG of rats after these effects was carried out. Significant differences in the average amplitudes and frequencies of the EEG were revealed in animals with different typological characteristics of the HNA. The change of the dominant rhythm in animals subjected to experimental influences is shown. Thus, in control animals, the  $\tau$ -rhythm is dominant, while in irradiated animals, the  $\delta$ -rhythm dominates. The most important result was the registered significant changes in the electrophysiological activity of the rat brain even six months after irradiation. A significant frequency shift in the area of all rhythms indicates a long-term violation of the electrophysiological activity of the brain. The results of neurochemical studies revealed significant differences in the metabolism of monoamines in key brain structures of animals with different typological characteristics of HNA, combined with their manifestation at the integrative level (in animal behavior).

**Keywords:** combined exposure,  $\gamma$ -irradiation, carbon ions, long-term effects, EEG, animal behavior, monoamine balance in the brain

## НЕИОНИЗИРУЮЩИЕ ИЗЛУЧЕНИЯ

УДК 537.86:57.084.1:599.323.4:591.111.1

### ОТДАЛЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ БАЗОВЫХ СТАНЦИЙ СИСТЕМ СОТОВОЙ СВЯЗИ НА ГЕМОПОЭЗ КРЫС

© 2022 г. С. Ю. Перов<sup>1</sup>, В. С. Орлова<sup>2</sup>, Р. З. Лифанова<sup>1,2,\*</sup>, А. А. Кислякова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт медицины труда им. акад. Н.Ф. Измерова, Москва, Россия

<sup>2</sup>Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

\*E-mail: torazo-414@mail.ru

Поступила в редакцию 07.06.2021 г.

После доработки 19.10.2021 г.

Принята к публикации 09.11.2021 г.

Представлены результаты исследований влияния многочастотных электромагнитных полей, создаваемых базовыми станциями подвижной сотовой связи, на гематологические показатели и клеточный состав костного мозга животных. Крысы линии Wistar подвергали воздействию электромагнитных полей с общим ППЭ 250 мкВт/см<sup>2</sup> на частотах 1.8; 2.1; 2.6 ГГц и 3.5; 26; 37 ГГц, и с суммарным ППЭ 500 мкВт/см<sup>2</sup> при 1.8; 2.1; 2.6; 3.5; 26; 37 ГГц. Облучение проводили непрерывно в течение 4 мес., материал для исследования отбирали через месяц после прекращения воздействия. Обнаружено достоверное изменение одного из гематологических показателей крови животных, облученных на частотах 1.8; 2.1; 2.6 ГГц при уровне ППЭ 250 мкВт/см<sup>2</sup>. Выявлены статистически значимые изменения в миелограмме костного мозга облученных крыс, а именно повышение относительного контроля процентного содержания палочкоядерных нейтрофилов и лимфоцитов, снижение количества оксифильных эритробластов и моноцитов у крыс после воздействия на частотах 3.5; 26; 37 ГГц при ППЭ 250 мкВт/см<sup>2</sup>, а также и при сумме всех частот, т.е. 1.8; 2.1; 2.6; 3.5; 26; 37 ГГц с одинаковой величиной ППЭ 500 мкВт/см<sup>2</sup>. Остальные изменения гематологических показателей и клеточного состава костного мозга облученных животных оставались в пределах физиологической нормы. Обнаруженные изменения могут свидетельствовать о потенциальных отдаленных эффектах хронического воздействия многочастотных электромагнитных полей базовых станций сотовой связи на систему гемопоэза.

**Ключевые слова:** электромагнитное поле, многочастотное электромагнитное поле, базовые станции сотовой связи, гематологические показатели, костный мозг

DOI: 10.31857/S086980312201012X

В последние годы в связи с прогрессирующим увеличением числа базовых станций сотовой и профессиональной подвижной связи, частотно-модулированного телерадиовещания, средств радиолокации и прочих источников электромагнитных полей (ЭМП) особую актуальность приобрела проблема оценки их биологического действия. В настоящее время существует обширная литература, в которой приведены результаты эпидемиологических и экспериментальных исследований биологических эффектов воздействия ЭМП, связанных с коммуникационными и прочими технологиями, в том числе и сотовой связи.

Тем не менее между эпидемиологическими и экспериментальными исследованиями в лабораторных условиях существует принципиальная разница с точки зрения исследуемых электромагнитных сигналов. В реальных условиях большинство населения подвергается воздействию слож-

ной комбинации частот и сигналов различной интенсивности: измерения электромагнитного фона в некоторых крупных европейских городах выявили присутствие ЭМП в диапазоне частот от 100 МГц до 5.5 ГГц [1, 2]. Результаты показали, что облучение населения от сигналов радио- и телевещательных вышек является менее интенсивным, чем от базовых станций сотовой связи (преимущественно 900, 1800, 2100 и 2600 МГц), вклад которых постоянно увеличивается и составляет более 60% от общего воздействия [1–3]. Однако в подавляющем числе экспериментальных исследований, проводимых в лабораторных условиях на животных, как правило, используется одна частота или интенсивность. В связи с этим нельзя не согласиться с недавно высказанным мнением о насущной потребности проведения дополнительных лабораторных медико-биологических исследований, которые более точно воспроизво-

дят реалистичные условия воздействия ЭМП нескольких частот (multiple frequencies) от базовых станций сотовой связи на население [4]. Сравнительные исследования сочетанного воздействия нескольких частот ЭМП показали различия в ключительных биологических эффектах, которые включали как идентичное действие для каждой из частот, так и противоположные результаты [5–7].

Среди исследований воздействия ЭМП на различные биологические функции, такие как пролиферация клеток, экспрессия генов, генотоксические и канцерогенные эффекты, большое значение имеет изучение последствий влияния на систему крови и клетки костного мозга. Выполненный анализ литературных источников показал, что влияние ЭМП на кровь и кроветворение костного мозга изучено недостаточно, поскольку клетки крови и их предшественники качественно и количественно изменяются под воздействием ЭМП [8]. Изучение формирования реакций экспериментальных животных со стороны гемопоэза на такой фактор как ЭМП требует длительный период времени, в том числе и после окончания облучения.

Цель настоящей работы – оценить степень нарушений в системе кроветворения крыс-самцов после хронического воздействия ЭМП нескольких частот по изменению количественных и функциональных показателей клеток крови и костного мозга.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Объектом исследований послужили 48 половозрелых беспородных крыс-самцов линии Wistar, которые были распределены на четыре группы по 12 животных в каждой, три из которых подверглась хроническому воздействию многочастотного ЭМП. Животных группы 1 облучали на трех частотах 1.8; 2.1; 2.6 ГГц при общей для всех частот величине ППЭ 250 мкВт/см<sup>2</sup>, крысы группы 2 – также на трех частотах 3.5; 26; 37 ГГц и при одинаковой величине ППЭ 250 мкВт/см<sup>2</sup>. Экспозиция животных в группе 3 происходила при сумме всех частот, т.е. 1.8; 2.1; 2.6; 3.5; 26; 37 ГГц с одинаковой для всех шести частот величине ППЭ 500 мкВт/см<sup>2</sup>. Облучение проводили круглосуточно в течение 4 мес. с периодическим перерывом на уход за животными, после чего крысы всех групп один месяц находились в аналогичных условиях, но без воздействия ЭМП. Животные во время облучения находились в пластиковых радиопрозрачных клетках коллективного содержания и имели возможность свободного перемещения, а также доступа к корму и воде. Крысы всех групп содержались в условиях с поддерживаемым стандартным световым режимом: 9 ч освещения и 15 ч затемнения. Группа контроля содержалась в

аналогичных с экспериментальными животными условиях за исключением воздействия ЭМП. Спустя месяц после прекращения облучения животных выводили из эксперимента путем декапитации и производили забор проб периферической крови и костного мозга из бедренной кости для проведения анализов. Все работы с животными выполняли в соответствии с требованиями нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы и гуманном отношении к животным.

Во всех экспериментах для облучения животных использовали стандартное оборудование, создающее ЭМП, аналогичное базовым станциям сотовой связи стандартов GSM, UMTS, LTE и др.

Общий анализ крови проводили на автоматическом гематологическом анализаторе, морфологический состав клеток белой крови определяли путем подсчета лейкоцитов по методу Шиллинга в окрашенных по Романовскому–Гимзе мазках [9]. Цитологическое исследование миелограммы проводили путем подсчета клеток костномозгового пунктата из проксимального отдела бедренной кости крыс по методике Е.А. Кост [10]. Проверку на нормальность распределения данных проводили по критерию Шапиро–Уилка. При статистической обработке данных использовался непараметрический критерий Краскела–Уоллиса с апостериорным попарным сравнением выборок по критерию Данна.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ гематологических показателей крыс групп 1, 2 и 3 спустя месяц после воздействия указывает, что эритроциты, гематокрит и содержание гемоглобина достоверно не изменились по сравнению с группой контроля (табл. 1). Однако у облученных животных в периферической крови отмечается тромбоцитоз, наиболее выраженный в группе 3, в меньшей степени в группе 2 и незначительно отличается от контроля в группе 1. Помимо этого, выявлена тенденция к увеличению количества лейкоцитов, лимфоцитов и гранулоцитов в крови животных всех опытных групп по сравнению с показателями в контрольной группе, которая имеет наибольшее значение у крыс в группе 1.

Оптическая микроскопия показала, что мазки костномозгового пунктата обильно-клеточные, полиморфного состава. Количество бластных клеток не увеличено. При оценке тромбоцитарного ростка в поле зрения наблюдалось до 12 мегакариоцитов разной степени зрелости с отшнуровкой тромбоцитов. Белый росток расширен за счет лимфоцитов. Красный росток соответствовал контрольным значениям. Лейко-эритробластическое отношение было в пределах физиологической нормы. Анализ миелограммы костного

**Таблица 1.** Гематологические показатели периферической крови облученных крыс по сравнению с контрольными животными спустя один месяц после прекращения хронического воздействия ЭМП  
**Table 1.** Hematological parameters of the peripheral blood one month after EMF rats chronic exposure

Форменные элементы крови и гемоглобин	Экспериментальные группы животных			
	группа контроля	группа 1	группа 2	группа 3
		ППЭ 250 мкВт/см <sup>2</sup>		ППЭ 500 мкВт/см <sup>2</sup>
		1.8; 2.1; 2.6 ГГц	3.5; 26; 37 ГГц	1.8; 2.1; 2.6; 3.5; 26; 37 ГГц
Эритроциты ( $\times 10^{12}/л$ )	9.36 [9.99; 9.91]	9.70 [9.18; 10.46]	9.72 [9.27; 10.74]	9.76 [9.40; 10.91]
Гематокрит (%)	53.45 [52.35; 56.43]	57.05 [54.28; 60.13]	56.00 [53.98; 60.60]	56.20 [53.90; 61.13]
Гемоглобин (г/л)	172.50 [166.50; 178.75]	180.50 [171.75; 188.50]	174.00 [168.50; 187.25]	176.00 [167.75; 191.75]
Тромбоциты ( $\times 10^9/л$ )	792.00 [701.75; 1109.75]	815.00 [610.25; 1320.50]	1082.00 [854.75; 1300.50]	1160.50 [817.75; 1158.25]
Лейкоциты ( $\times 10^9/л$ )	8.90 [6.05; 10.50]	11.15 [8.60; 12.88]	9.30 [8.50; 11.55]	9.50 [8.33; 10.65]
Лимфоциты ( $\times 10^9/л$ )	5.95 [4.03; 7.43]	7.30 [5.45; 8.73]	6.25 [5.90; 7.88]	6.40 [5.20; 7.20]
Моноциты ( $\times 10^9/л$ )	0.25 [0.20; 0.33]	0.40 [0.30; 0.50]	0.30 [0.30; 0.33]	0.30 [0.28; 0.40]
Гранулоциты ( $\times 10^9/л$ )	2.40 [1.83; 2.70]	3.25* [2.80; 4.03]	2.90 [2.38; 3.23]	2.65 [2.08; 3.25]

\* $p < 0.05$  при сравнении с контролем.

мозга облученных животных показал в группах 2 и 3 статистически значимое повышение относительно контроля процентного содержания палочкоядерных нейтрофилов и лимфоцитов, тогда как в группе 1 не наблюдалось значимых различий (рис. 1). Содержание моноцитов в группе 2 и оксифильных эритробластов в группах 2 и 3 через месяц после завершения экспозиции статистически значимо снижено по сравнению с контролем и группой 2.

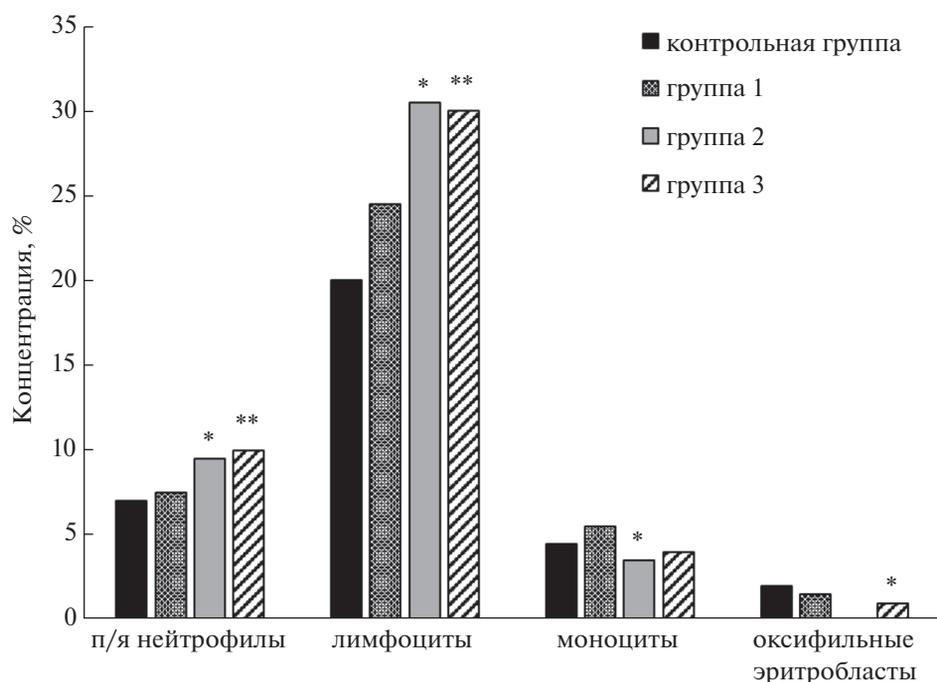
## ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты выполненных исследований позволяют сделать заключение об отсутствии устойчивых эффектов влияния ЭМП с использованными параметрами (частоты и интенсивности) на гемопоэз крыс при хроническом воздействии в течение 4 мес. Представляется вполне правомерным указать на частичное восстановление гемопоэза в костном мозге в течение месяца после устранения потенциально действующего фактора. Полученные результаты позволяют предположить о развитии предрасположенности к повы-

шению свертываемости крови в результате тромбоцитоза при определенном сочетании частот, что в дальнейшем может привести к тромбозам и последующей патологии.

Сходные результаты были получены при изучении влияния облучения в течение одного месяца ЭМП стандарта GSM с частотами 900 и 1800 МГц при величине ППЭ 6 мВт/м<sup>2</sup> на гематологические параметры и гистопатологию костного мозга [11]. Результат анализов крови показывает, что форменные элементы крови (эритроциты, гематокрит, лейкоциты и т.п.) как ложно подвергшихся, так и облученных в течение ЭМП мышей были в пределах нормальных величин показателей животных контрольной группы. Согласно приведенным данным, статистических различий в гематологических показателях между облученными в аналогичных условиях мышами и контрольной группы не отмечалось, за исключением содержания гемоглобина [12].

Исследовано влияние ЭМП 2450 МГц на состав белой крови мышей, которых облучали при средней ППЭ 10 мВт/м<sup>2</sup> на протяжении 60 дней [13].



**Рис. 1.** Миелограмма костного мозга облученных крыс по сравнению с контрольными животными спустя один месяц после прекращения хронического воздействия ЭМП.

\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$  при сравнении с контролем.

**Fig. 1.** Myelogram of the bone marrow one month after EMF chronic rat exposure.

\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$  when compared with the control.

Образцы периферической крови отбирали у облученных и контрольных животных сразу после облучения и на 1-е, 16-е, 32-е и 60-е сутки эксперимента. Результаты показали снижение общего количества лейкоцитов с первого по последний день экспозиции по сравнению с контрольными пробами при незначительном увеличении относительной доли нейтрофилов.

Изучение влияния воздействия на протяжении одного месяца ЭМП частотой 900 МГц на костный мозг, полученный из бедренных костей контрольных и ложно облученных мышей, не выявило различия в количестве ядерных клеток между этими группами [14]. В других исследованиях облучение создаваемого мобильными базовыми станциями ЭМП частотой 900 МГц на протяжении более 2 мес. вызвало изменения в картине крови крыс, выражающиеся в снижении общего количества лейкоцитов, эритроцитов, тромбоцитов и величины гематокрита [15]. Содержание базофильных эритробластов, миелобластов и миелоцитов в костном мозге в подвергнутых воздействию группах значительно увеличилось по сравнению с контрольными группами.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ результатов проведенных исследований позволил установить, что значимое влияние

на гематологические параметры и цитологический состав костного мозга оказывало сочетание действующих частот ЭМП, но не интенсивность воздействия. Экспозиция на более высоких частотах с уровнем в 2 раза ниже для группы облучения на более низких частотах имела схожие тенденции биологического действия ЭМП. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что при гигиенической оценке безопасных уровней воздействия ЭМП представляется важным учитывать не только величины поглощенной энергии, но и частотную структуру воздействия.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Gajšek P., Ravazzani P., Wiart J. et al.* Electromagnetic field exposure assessment in Europe radiofrequency fields (10 MHz–6 GHz) // *J. Exp. Sci. Environ. Epidemiol.* 2015. V. 25. № 1. P. 37–44.
2. *Sagar S., Dongus S., Schoeni A. et al.* Radiofrequency electromagnetic field exposure in everyday microenvironments in Europe: A systematic literature review // *J. Exp. Sci. Environ. Epidemiol.* 2018. V. 28. № 2. P. 147–160.
3. *Chiaramello E., Bonato M., Fiocchi S. et al.* Radio frequency electromagnetic fields exposure assessment in indoor environments: a review // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2019. V. 16. № 6. P. 29.
4. *Sienkiewicz Z., Calderón C., Broom K.A. et al.* Are exposures to multiple frequencies the key to future radiofre-

- quency research? // *Front. Publ. Health*. 2017. V. 5. № 328. P. 11.
5. *Tan S., Wang H., Peng R.* A review on combined biological effects of microwave and other physical or chemical agents // *Int. J. Radiat. Res.* 2018. V. 16. № 2. P. 139–153.
  6. *Shirai T., Wang J., Kawabe M. et al.* No adverse effects detected for simultaneous whole-body exposure to multiple-frequency radiofrequency electromagnetic fields for rats in the intrauterine and pre- and post-weaning periods // *J. Radiat. Res.* 2017. V. 58. № 1. P. 48–58.
  7. *Zhu R., Wang H., Xu X. et al.* Effects of 1.5 and 4.3 GHz microwave radiation on cognitive function and hippocampal tissue structure in Wistar rats // *Sci. Rep.* 2021. V. 11. № 1. P. 1–12.
  8. *Darvishi M., Mashati P., Kandala S. et al.* Electromagnetic radiation: a new charming actor in hematopoiesis? // *Expert Rev. Hematol.* 2021. V. 14. № 1. P. 47–58.
  9. *Соболева Т.Н.* Цитологическое исследование пунктата костного мозга // *Мед. алфавит*. 2011. Т. 4. № 22. С 6–10. [*Soboleva T.N.* Citologicheskoe issledovanie punktata kostnogo mozga // *Medicinskij alfavit*. 2011. V. 4. № 22. P. 6–10. (In Russ.)]
  10. *Карпищенко А.И.* Медицинские лабораторные технологии, руководство. В 2-х т. / Под ред. А.И. Карпищенко. 3-е изд. Т.1. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. 472 с. [*Karpishchenko A.I.* Medicinskie laboratornye tekhnologii, rukovodstvo. V 2-h t. / Pod red. A.I. Karpishchenko. 3-e izd. T. 1. M.: GEOTAR-Media, 2012. 472 p. (In Russ.)]
  11. *Usman A.D., Ahmad W.W., Ab Kadir M.Z. et al.* Effect of radiofrequency electromagnetic field exposure on hematological parameters of mice // *World Appl. Sci. J.* 2012. V. 16. № 5. P. 656–664.
  12. *Tohidi F.Z., Fardid R., Rad S.A. et al.* The effect of cell-phone radiation on hematological blood cell factors in BALB/C mice // *Iran. J. Med. Phys.* 2016. V. 13. № 1. P. 58–64.
  13. *Dabo G.I., Songden S.A.* Effect of GSM radiation on white blood cells // *Advances in Life Science and Technology*. 2014. V. 24. P. 130–138.
  14. *Prisco M.G., Nasta F., Rosado M.M. et al.* Effects of GSM-modulated radiofrequency electromagnetic fields on mouse bone marrow cells // *Radiat. Res.* 2008. V. 170. № 6. P. 803–810.
  15. *Jelodar G., Nazifi S., Nuhravesh M.* Effect of electromagnetic field generated by BTS on hematological parameters and cellular composition of bone marrow in rat // *Comp. Clin. Path.* 2011. V. 20. № 6. P. 551–555.

## Electromagnetic Field Chronic Exposure Effects of Cellular Base Stations on Rat Hemopoiesis

S. Yu. Perov<sup>a</sup>, V. S. Orlova<sup>b</sup>, R. Z. Lifanova<sup>a,b,#</sup>, and A. A. Kislyakova<sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Izmerov Research Institute of Occupational, Moscow, Russia*

<sup>b</sup> *Peoples Friendship University of Russia, Moscow, Russia*

<sup>#</sup> *E-mail: torazo-414@mail.ru*

The results the multifrequency electromagnetic field biological effect studies generated by mobile cellular communication base stations on hematological parameters and cellular composition of the bone marrow are presented. Wistar rats were exposed to electromagnetic field with a total power density 250  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$  1.8; 2.1; 2.6 GHz and 3.5; 26; 37 GHz, and with a total power density 500  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$  at 1.8; 2.1; 2.6; 3.5; 26; 37 GHz. Rats exposure was carried out continuously for 4 months, the biological material was taken one month after the termination of exposure. A significant change was found in one of the hematological parameters of exposed rats at frequencies 1.8; 2.1; 2.6 GHz with power density 250  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ . Statistically significant changes in the bone marrow myelogram of exposed rats were revealed, namely, an increase percentage of stab neutrophils and lymphocytes, a decrease oxyphilic erythroblasts and monocytes in rats after exposure to frequencies 3.5; 26; 37 GHz with 250  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ , as well as with the sum of all frequencies, i.e. 1.8; 2.1; 2.6; 3.5; 26; 37 GHz with 500  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ . Other changes in hematological parameters and cellular composition of the bone marrow exposed animals remained within the physiological norm. The detected changes may indicate potential long-term effects of chronic exposure to multifrequency electromagnetic fields of base stations of cellular communication on the hematopoietic system.

**Keywords:** electromagnetic field, mobile communication, bone marrow, leukogram

УДК 539.163:582.475.4:631.45:502.05:614.876

## ПРОГРАММНОЕ СРЕДСТВО ДЛЯ ОЦЕНКИ МОЩНОСТИ ПОГЛОЩЕННОЙ ДОЗЫ В СОСНОВЫХ НАСАЖДЕНИЯХ ПОСЛЕ АВАРИЙНЫХ РАДИОАКТИВНЫХ ВЫПАДЕНИЙ

© 2022 г. Т. В. Переволоцкая<sup>1</sup>, А. Н. Переволоцкий<sup>1</sup>, С. А. Гераськин<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия

\*E-mail: stgeraskin@gmail.com

Поступила в редакцию 14.05.2021 г.

После доработки 28.10.2021 г.

Принята к публикации 09.11.2021 г.

Представлено программное средство для оценки динамики мощности поглощенной дозы внешнего  $\beta$ - и  $\gamma$ -облучения по высоте древостоя сосновых насаждений в течение первого года после аварийных радиоактивных выпадений с учетом динамики их перераспределения между компартментами системы “поверхность кроны древесных растений – поверхностный слой почвы”. Сформулированы основные допущения реализации программного средства с применением методов математического моделирования. Оценка осаждения радионуклидов на земную поверхность базируется на гауссовой модели атмосферной диффузии. Модельный (компаратментный) подход динамики перераспределения активности радионуклида из состава радиоактивных выбросов представлен решением системы линейных дифференциальных уравнений I порядка. Расчет мощности поглощенной дозы основан на интегрировании дозовой функции ослабления точечного источника излучения. Установлен определяющий вклад  $\beta$ -излучения от радионуклидов, находящихся на поверхности исследуемых компартмент системы. Методический подход, учитывающий динамику распределения радионуклидов в системе “поверхность кроны древесных растений – поверхностный слой почвы” и связанные с ней дозы внешнего  $\beta$ - и  $\gamma$ -облучения по высоте древостоев сосновых насаждений в течение первого года после аварийных радиоактивных выпадений, реализован в виде программного средства и может быть применен при решении задач обеспечения радиационной безопасности окружающей среды.

**Ключевые слова:** радиоактивность, поверхность кроны древесных растений, поверхностный слой почвы, радионуклиды,  $\beta$ -излучение,  $\gamma$ -излучение, аварийные радиоактивные выпадения, мощность поглощенной дозы, сосновые насаждения, аварийный выброс

DOI: 10.31857/S0869803122010118

Для обеспечения радиологической защиты окружающей среды в условиях интенсивного развития ядерных технологий возрастает потребность разработки системы оценки рисков облучения биоты [1–5]. К настоящему времени разработаны концепция референтных организмов и основные подходы по проведению дозиметрических оценок, исследованы зависимости и диапазон эффектов облучения от величины поглощенной дозы для референтных организмов [4, 6, 7]. Однако существующие допущения при расчете доз облучения биоты ограничиваются условиями квазиравновесного распределения радионуклидов между компонентами биогеоценоза, а также постоянными физическими и геометрическими параметрами источника и приемника излучения. Кроме того, при малых и больших размерах референтного организма относительно свободного пробега переносчиков излучения существенны

расхождения в расчетных и измеренных величинах доз [8], что требует учета геометрического фактора и не исключает проведение дозиметрических оценок на основании иных расчетных методов.

Авторы концепции референтного организма [4, 6, 7] отмечают необходимость дальнейшего совершенствования дозиметрических моделей, в частности для сосны обыкновенной, как одного из наиболее радиочувствительных видов. В соответствии с существующими допущениями для этого организма оценивают дозу внешнего  $\gamma$ - и внутреннего  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -излучений только на слой активно растущей древесины, пренебрегая оценкой радиационного воздействия на генеративные органы. Вместе с тем исследования, проведенные в острую фазу аварийных радиоактивных выпадений [9–13], свидетельствовали о формировании значительных доз облучения в кронах древесных

растений из-за сильной задерживающей способности по отношению к радиоактивным выпадениям и связанных с облучением радиационно-индуцируемых эффектов. При этом в ряде исследований [12–17] отмечено влияние лесотаксационных показателей, метеорологических условий, времени года на поток энергии ионизирующего излучения в лесных биогеоценозах, что существенно усложняет проведение расчетов внешнего облучения древесных растений.

Целью настоящего исследования стала разработка программного средства для оценки динамики мощности поглощенной дозы внешнего  $\beta$ - и  $\gamma$ -облучения по высоте древостоев сосновых насаждений в течение первого года после аварийных радиоактивных выпадений.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

В состав программного средства входят четыре расчетных модуля по оценке:

- биометрических показателей древесных растений сосновых насаждений в зависимости от возраста и бонитета;
- плотности осаждения радионуклидов из состава аварийных выпадений на земную поверхность;
- динамики активности радионуклидов из состава выпадений в системе “поверхность кроны древесных растений – поверхностный слой почвы”;
- динамики мощности поглощенной дозы внешнего  $\beta$ - и  $\gamma$ -облучения по высоте древостоев сосновых насаждений в первый вегетационный сезон после аварийных радиоактивных выпадений.

При проведении расчетов были приняты следующие допущения.

В качестве модельных биогеоценозов выбраны сосновые насаждения, критерии их выбора – положение в системе (экологические), доступность для мониторинга, критические пути облучения (дозиметрические), радиочувствительность, способность вида к самовосстановлению [4, 5, 7, 12, 13].

Биометрические показатели древесных растений (высота, диаметр ствола на высоте 1.3 м, биомасса элементов надземной фитомассы) принимали неизменными в течение вегетационного периода и аппроксимировали параболической функцией в зависимости от возраста ( $A_g$ ) и бонитета насаждения [18]:

$$Y = a_0 + a_1 A_g + a_2 A_g^2 + a_3 A_g^3, \quad (1)$$

где  $Y$  – результирующий показатель;  $a_0, a_1, a_2, a_3$  – параметры;  $A_g$  – возраст деревьев, лет.

Взаимосвязь протяженности крон ( $l_k$ ) с высотами ( $H$ ) и диаметрами стволов ( $d$ ) представлена в виде [19]:

$$l_k = r_0 + r_1 d + r_2 H + r_3 d H, \quad (2)$$

где  $r_0, r_1, r_2, r_3$  – параметры;  $H$  – высота деревьев, м;  $d$  – диаметр ствола дерева на высоте груди, см.

Поступление радионуклидов в модельный биогеоценоз предполагали в результате аварийных радиоактивных выпадений. Плотность выпадений на земную поверхность  $i$ -го радионуклида на расстоянии  $x$  от источника выброса рассчитывали с помощью Гауссовой модели рассеяния радионуклидов в атмосфере для разовых выбросов [20]:

$$\sigma_i(x) = Q_i V_{g,i} G(x), \quad (3)$$

где  $Q_i$  – активность выброса, Бк;  $V_{g,i}$  – скорость гравитационного осаждения радионуклида, м/с;  $G(x)$  – фактор метеорологического разбавления на удалении  $x$  метров от источника выброса, с/м<sup>3</sup>.

Фактор метеорологического разбавления ( $G(x)$ ) рассчитывается на уровне подстилающей поверхности ( $z = 0$ ) на оси следа выпадений ( $y = 0$ ) [20]:

$$G(x) = \frac{f_p(x) f_{oc}(x) f_b(x)}{\pi \sigma_y(x) \sigma_z(x) u} e^{-\left(\frac{h^2}{2\sigma_z(x)}\right)}, \quad (4)$$

где  $h$  – высота выброса над земной поверхностью, м;  $\sigma_z(x), \sigma_y(x)$  – стандартные отклонения распределения примеси в облаке выброса в направлении соответствующих координатных осей, м [20];  $f_p(x), f_{oc}(x), f_b(x)$  – функции истончения струи за счет радиоактивного распада, сухого осаждения и влажного выведения из атмосферы на подстилающую поверхность [20].

В течение времени аварийного выброса и последующих 10 ч после его прекращения метеорологические (скорость и направление ветра на высоте флюгера, категорию устойчивости атмосферы) и радиологические (интенсивность, радионуклидный состав, формы нахождения радионуклидов) условия приняты неизменными.

В связи с вероятностным характером развития аварийной ситуации и повреждений технологического оборудования на предприятии, применяющем ядерные технологии, геометрическая высота выброса и его радионуклидный состав могут быть произвольными, но неизменными в течение времени моделирования выброса.

Скорость гравитационного (сухого) осаждения радионуклидов принята по умолчанию, скорость осаждения 0.008 м/с<sup>1</sup>.

Аэродинамическая шероховатость земной поверхности принимается постоянной в направлении движения облака аварийных радиоактивных выпадений. Предполагали, что на момент радиационной аварии могут быть любая категория устойчивости атмосферы (от А – предельно неустойчивая до Г – очень устойчивая) и скорость ветра на высоте флюгера [20].

При расчетах распространения радионуклидов относительно источника аварийного выброса учет атмосферных осадков не проводили [20]. Это связано с тем, что время с осадками в течение года относительно невелико по сравнению с его общей продолжительностью. Соответственно вероятность аварийного выброса в момент выпадения атмосферных осадков мала.

Поверхностное радиоактивное загрязнение наземной фитомассы древесных растений основных насаждений определяется задерживанием радионуклидов и дальнейшим их перераспределением между компартментами системы “поверхность кроны древесных растений – поверхностный слой почвы”.

Активность  $i$ -го радионуклида на поверхности кроны древесного растения ( $\sigma_{\text{раст},i}$ ), произрастающего на единице площади почвы, рассчитывали на основе следующей зависимости [21]:

$$\sigma_{\text{раст},i}(t) = \sigma_i K_3 e^{(-\lambda_{\text{эфф},i} t)}, \quad (5)$$

где  $K_3$  – коэффициент первичного задерживания (доля задержанного растительностью радионуклида от величины  $\sigma_{\text{вып},i}$ ), отн. ед.;  $\lambda_{\text{эфф}}$  – константа, учитывающая экологическое очищение и радиоактивный распад, сут<sup>-1</sup>.

Динамику поверхностной активности  $i$ -го радионуклида в поверхностном слое почвы описывали формулой [21]:

$$\sigma_{\text{почв},i}(t) = \sigma_i e^{(-\lambda_{\text{расп},i} t)} (1 - K_3 e^{(-\lambda_{\text{очищ},i} t)}), \quad (6)$$

где  $\lambda_{\text{очищ}}$  – постоянная очищения, сут<sup>-1</sup>,  $\lambda_{\text{расп}}$  – константа радиоактивного распада, сут<sup>-1</sup>.

В формулах (5) и (6) постоянная очищения поверхности кроны ( $\lambda_{\text{очищ}}$ ) принята 0.0077 сут<sup>-1</sup> (90 сут) [21]. Коэффициент задерживания радиоактивных выпадений поверхностью кроны древесных растений ( $K_3$ ) задается пользователем. Его величина может быть принята равной коэффициенту сомкнутости крон.

Предполагали равномерное распределение радионуклидов по вертикальному профилю каждого компартмента системы. Процессами миграции радионуклидов в глубь вертикального профиля почвы в течение первого года после аварийных выпадений пренебрегали.

Мощность поглощенной дозы по высоте древостоя формируется от внешнего  $\beta$ - и  $\gamma$ -излучения радионуклидов, находящихся на поверхности кроны древесных растений и в поверхностном слое почвы. Геометрия данных источников излучения – бесконечно протяженный излучающий слой конечной толщины.

Расчет мощности поглощенной дозы  $\gamma$ -излучения (Гр/с) на расстоянии  $L$  (м) от источника излучения проводили путем интегрирования дозовой функции ослабления точечного источника с

учетом вклада рассеянного излучения посредством применения дозового фактора накопления [22]:

$$D_\gamma(L) = 1.602 \times 10^{-13} q \sum_{i=1}^h \left( \frac{v_i E_i n_i}{4\pi L^2} e^{-\mu_i s} B(\mu_i s, E_i) \right), \quad (7)$$

где  $k$  – количество линий спектра  $\gamma$ -излучения;  $q$  – активность источника, Бк (для единичной активности мощность поглощенной дозы является коэффициентом дозового преобразования);  $L$  – расстояние от источника до точки детектирования, м;  $E_i$  – энергия  $\gamma$ -линии спектра, МэВ;  $n_i$  – выход квантов  $i$ -й энергии спектра на распад, отн. ед.;  $s$  – массовая толщина поглотителя между источником и детектором, кг/м<sup>2</sup>;  $E_i$  –  $i$ -я энергия спектра излучения радионуклида, МэВ;  $v_i$ ,  $\mu_i$  – массовые коэффициенты поглощения и ослабления квантов  $i$ -й энергии в среде прохождения излучения, м<sup>2</sup>/кг;  $B(\mu_i s, E_i)$  – фактор накопления.

Расчет мощности поглощенной дозы  $\beta$ -излучения (Гр/с) на расстоянии  $L$  (см) проводили путем интегрирования дозовой функции от точечного источника излучения с единственным спектром [22]:

$$D_\beta(L) = \frac{1.6 \times 10^{-10} a_{21} q n_\beta \bar{E}_\beta}{4\pi L^2} \times \quad (8)$$

$$\times (A a_{21} \rho L e^{-v_1 a_{21} \rho L} + B \times e^{-v_2 a_{21} \rho L} + C e^{-v_3 a_{21} \rho L}),$$

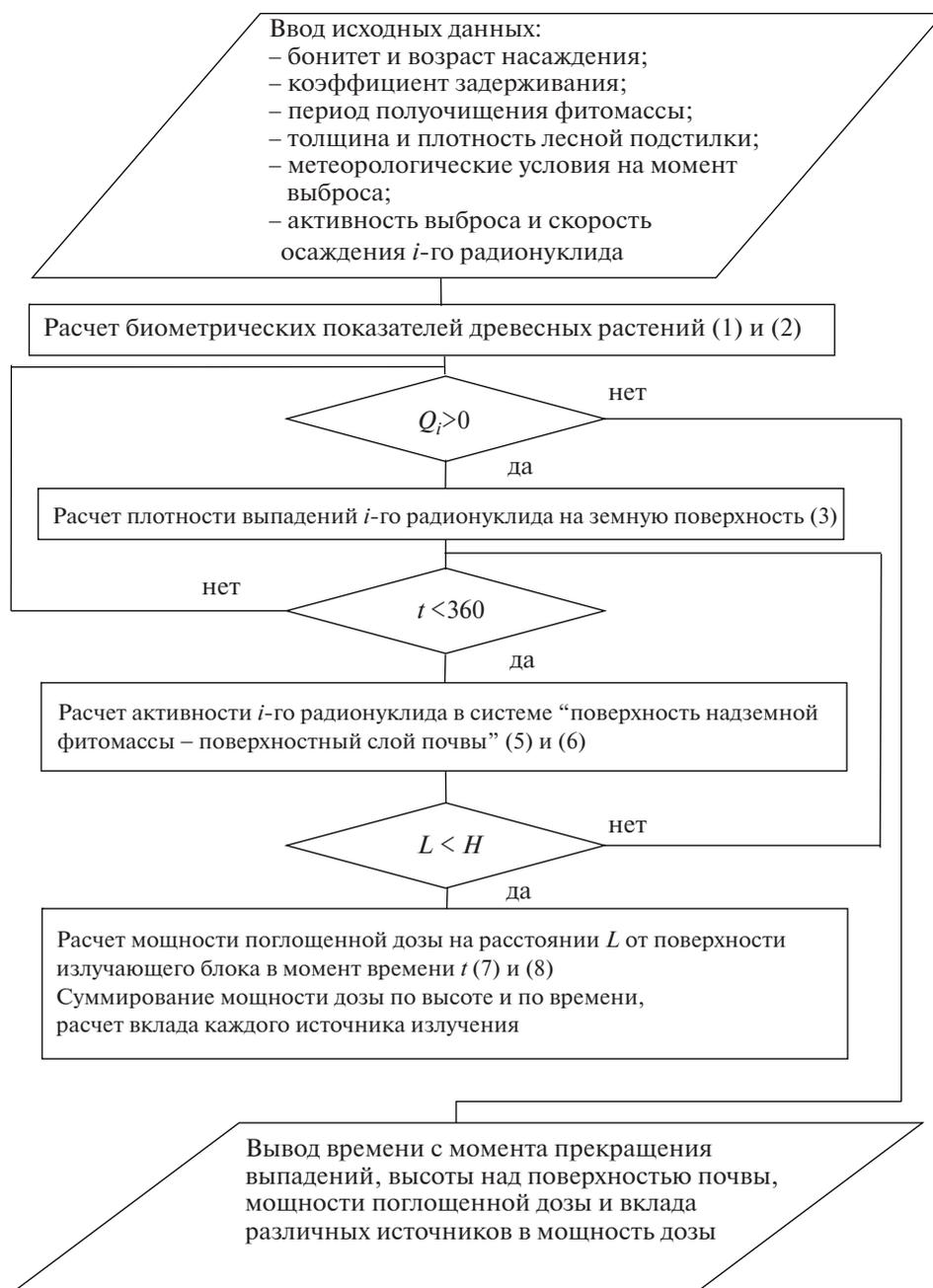
где  $a_{21}$  – коэффициент, учитывающий плотность среды, отличной от воды, принимается 0.89;  $n_\beta$  – выход  $\beta$ -частиц на распад, отн. ед.;  $\bar{E}_\beta$  – средняя энергия  $\beta$ -излучения, МэВ;  $\rho$  – плотность среды распространения, г/см<sup>3</sup>;  $A, B, C, v_1, v_2, v_3$  – безразмерные параметры, зависящие от максимальной энергии  $\beta$ -излучения. Значения параметров для разных энергетических диапазонов  $\beta$ -спектров приведены в [22].

Вывод расчетных формул для мощности поглощенной дозы  $\gamma$ -излучения с необходимыми пояснениями приведен в [17, 21],  $\beta$ -излучения – в [21].

Дозовая нагрузка от инертных радиоактивных газов не учитывалась, что связано с их распространением в атмосфере и радиационным воздействием на биоту только за время существования облака выброса.

При оценках мощности поглощенной дозы пренебрегали внешним  $\alpha$ -излучением в связи с его эффективным задерживанием поверхностным слоем кутикулы растений.

Модель динамики активности радионуклидов в системе “поверхность кроны древесных растений – поверхностный слой почвы” и связанной с ней мощности поглощенной дозы внешнего  $\beta$ - и  $\gamma$ -излучения по высоте древостоя охватывает только первый год после радиоактивных выпадений.



**Рис. 1.** Алгоритм расчета динамики мощности поглощенной дозы  $\beta$ - и  $\gamma$ -излучения по высоте древостоя сосновых насаждений после аварийных радиоактивных выпадений.

**Fig. 1.** Algorithm for calculating the dynamics of absorbed dose rate of  $\beta$ - and  $\gamma$ -radiation by the height of pine stands in case of accidental radioactive releases.

ний, когда происходят процессы поверхностного очищения надземной фитомассы. Процессами внекорневого и корневого поступления радионуклидов в растения в этот период можно пренебречь [9, 11, 13].

Оценка мощности поглощенной дозы от внутреннего облучения древесных растений в модели не рассматривалась.

На основе принятых допущений и математических формул (1–8) построен алгоритм расчета

динамики мощности поглощенной дозы внешнего  $\beta$ - и  $\gamma$ -излучения по высоте древостоя после аварийных радиоактивных выбросов (рис. 1) и разработано программное средство.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Интерфейс программного средства условно можно разделить на две части. В левой части осу-

ществляется ввод пользователем основных характеристик:

- соснового насаждения (возраст и бонитет, коэффициент задерживания радионуклидов и период полураспада наземной фитомассы);

- поверхностного слоя почвы (линейная толщина и плотность);

- условий радиоактивного выброса (высота, продолжительность, расстояние от источника выброса, для которого осуществляется расчет динамики мощности поглощенной дозы, категория устойчивости атмосферы и аэродинамическая шероховатость поверхности).

При этом используется предопределенный набор входных данных и условий выброса, однако можно их корректировать в соответствии с имеющейся информацией. Так, в зависимости от заданного возраста и бонитета древостоя автоматически вычисляются таксационные характеристики насаждения (высота деревьев, длина кроны и ее биомасса), при этом они могут быть скорректированы пользователем.

Предоставлена возможность выбора одной из шести категорий устойчивости атмосферы по Пасквиллу: от предельно неустойчивой с развитой конвекцией (А) до очень устойчивого состояния (G) [20].

Аэродинамическая шероховатость земной поверхности также может быть выбрана из четырех предопределенных в программном средстве величин: от 10 см, соответствующей открытым и ровным участкам земной поверхности до 400 см, соответствующей пересеченной местности [20].

Правая часть интерфейса программного средства содержит одну вкладку для ввода исходных данных по активности радионуклидов в составе выброса и их скорости гравитационного осаждения, а также ряд вкладок для вывода результатов расчета в табличной форме.

Ввод значения активности разового выброса в таблице осуществляется напротив соответствующего радионуклида, при этом пользователь может изменить скорость гравитационного осаждения. Энергетические характеристики радионуклидов (энергия МэВ на распад по  $\beta$ - и  $\gamma$ -излучениям, дифференциальная  $\gamma$ -постоянная для  $\gamma$ -квантов, средняя и максимальная энергия  $\beta$ -излучения, выход на распад  $\gamma$ -квантов) прописаны в библиотеке программного средства, подготовленной согласно [23], и применяются при расчетах дозовых показателей в соответствии с формулами (8–9). В правой части интерфейса программного средства пользователь осуществляет выбор показателя по величинам мощности дозы для сводной таблицы, по умолчанию установлен показатель суммарной мощности дозы (рис. 2).

Результаты расчетов отражены на вкладках “Показатели осаждения”, “Распределение мощности дозы”, “Динамика мощности дозы” и “Динамика радиационного показателя” (рис. 2).

Вкладка “Показатели осаждения” содержит информацию по интегральной и осредненной объемной активности радионуклидов в облаке аварийного выброса, а также плотности выпадений на земную поверхность для каждого из радионуклидов со скоростью гравитационного осаждения, отличной от нуля (рис. 3).

На вкладке “Распределение мощности дозы” отображаются результаты расчета мощности поглощенной дозы внешнего  $\beta$ - и  $\gamma$ -облучения по высоте древостоя от излучения радионуклидов, находящихся на поверхности почвы и кроны для произвольного момента времени от окончания радиоактивных выпадений. На данной вкладке приводится оценка вклада каждого из источников в суммарную расчетную мощность поглощенной дозы (рис. 4).

Вкладка “Динамика мощности дозы” программного средства отображает динамику мощности поглощенной дозы, вклад видов и источников излучения по высоте сосновых насаждений в течение первого года после радиоактивных выпадений (рис. 5).

Вкладка “Динамика радиационного показателя” предоставляет пользователю информацию об изменении выбранного пользователем дозиметрического показателя по высоте древостоя в течение года после прекращения радиоактивных выпадений.

С применением разработанного программного средства выполнен расчет динамики мощности поглощенной дозы внешнего  $\beta$ - и  $\gamma$ -излучения по высоте древостоя после аварийных радиоактивных выбросов на примере 30-летнего соснового насаждения II класса бонитета. Исходные данные отражены на рис. 2.

Прогнозируемая суммарная мощность поглощенной дозы на 1-е сутки после выпадений неравномерно распределена по высоте древостоя. У поверхности почвы она составляет ~2000 мкГр/сут, при этом 80% мощности дозы формирует внешнее  $\beta$ -излучение (рис. 4). С увеличением высоты от поверхности почвы к середине подкранового пространства мощность поглощенной дозы снижается до 600 мкГр/сут. Она формируется, в основном, за счет  $\gamma$ -излучения радионуклидов, задержанных кроной древесных растений (~40%) и находящихся на поверхности почвы (30%). В середине кроны мощность поглощенной дозы достигает 1240 мкГр/сут и определяется излучением радионуклидов, задержанных поверхностью наземной фитомассы деревьев, при этом ~60% дозового показателя формирует  $\beta$ - и около 20% –  $\gamma$ -излучение (рис. 4).

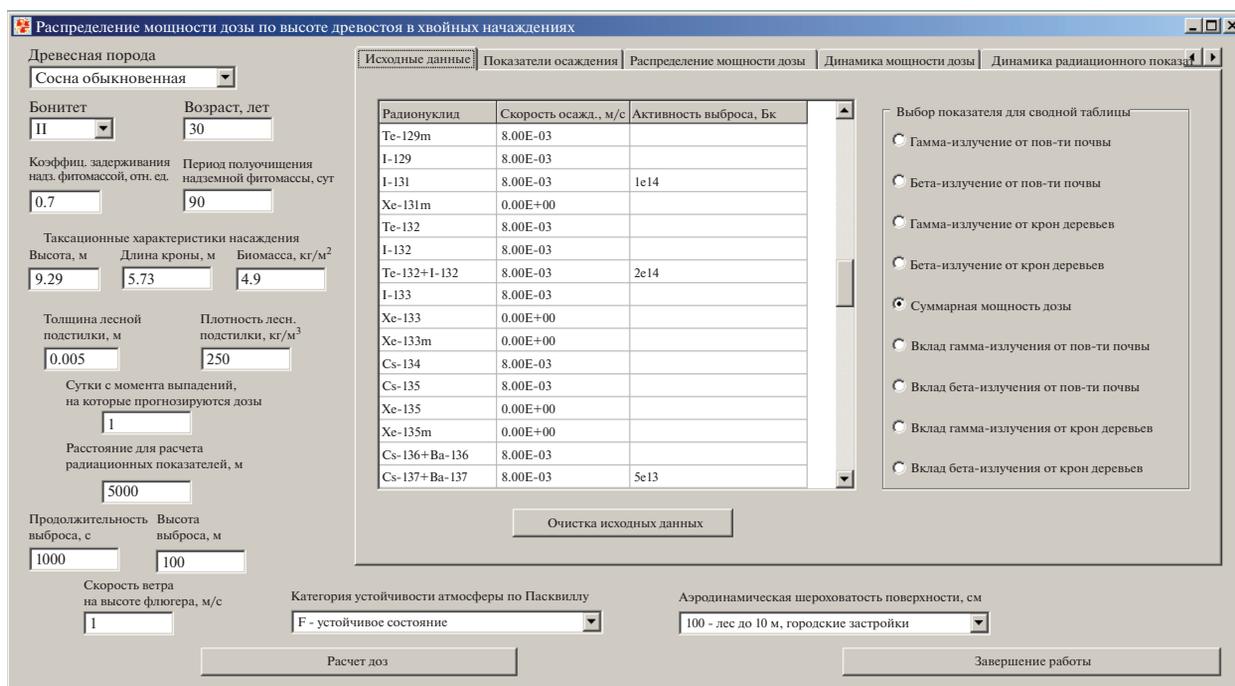


Рис. 2. Интерфейс главного окна программного средства.

Fig. 2. Interface of the main window of the software tool.

Радионуклид	Интегральная объемн. активн., Бк/м <sup>3</sup>	Осредненная объемн. активн., Бк/м <sup>3</sup>	Плотность выпадений Бк/м <sup>2</sup>
I-131	8.191E + 07	8.191E + 04	6.553E + 05
Te-132 + I-132	1.635E + 08	1.635E + 05	1.308E + 06
Cs-137 + Ba-137	4.101E + 07	4.101E + 04	3.281E + 05

Копировать таблицу в буфер обмена

Рис. 3. Вывод данных по объемной активности и плотности выпадений радионуклидов на вкладке “Показатели осаднения”.

Fig. 3. Output of data on the volume activity and density of radionuclide deposition on “Deposition indicators” tab.

Оценка вклада разных видов и источников ионизирующего излучения в мощность поглощенной дозы в кроне дерева на 1-е и 360-е сутки после радиоактивных выпадений приведена на рис. 5. На первые сутки после радиоактивных выпадений основным источником облучения кроны служит  $\beta$ -излучение радионуклидов, находящихся на ее поверхности. В дальнейшем вклад этого источника снижается и определяющую роль играет  $\gamma$ -излучение от поверхности почвы.

За первый год после радиоактивных выпадений ожидается неравномерное снижение мощно-

сти поглощенной дозы по высоте кроны древесных растений: в 3–10 раз у поверхности почвы, до 30 раз в середине подкоронового пространства и до 70 – в середине кроны (рис. 6). Это связано с радиоактивным распадом короткоживущих  $^{132}\text{I} + ^{132}\text{Te}$  и  $^{131}\text{I}$ , а также с поверхностным очищением кроны древесных растений.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Настоящее программное средство позволяет прогнозировать динамику мощности поглощен-



Рис. 4. Вывод данных по распределению мощности поглощенной дозы внешнего β- и γ-излучения по высоте дерева на вкладке “Распределение мощности дозы”.

Fig. 4. Output of data on the distribution of absorbed dose rate of external β- and γ-radiation by height of stand on the “Dose rate distribution” tab”.

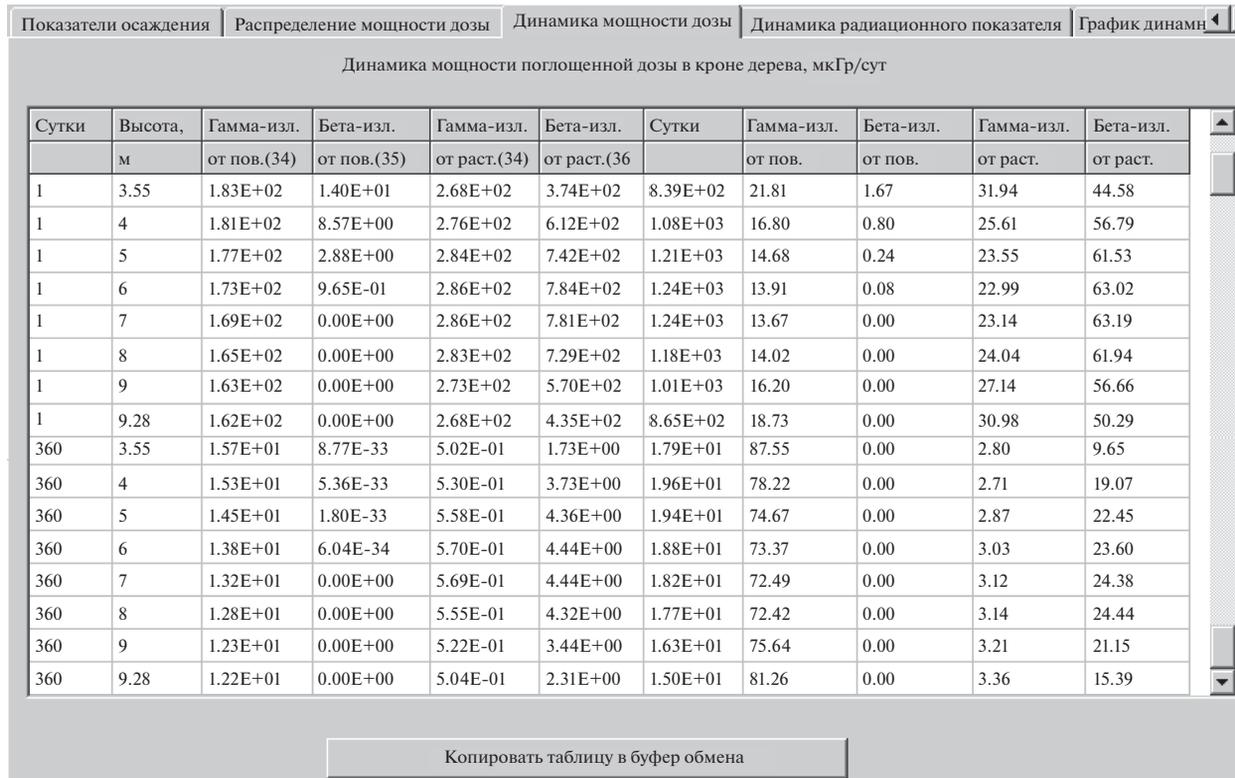


Рис. 5. Вывод данных по динамике мощности поглощенной дозы в кроне деревьев на вкладке “Динамика мощности дозы”.

Fig. 5. Output of data on the dynamics of absorbed dose rate in tree crown on “Dose rate dynamics” tab.

Суммарная мощность дозы, мкГр/сут										
Высота, м	1 сутки	2 сутки	3 сутки	10 сутки	15 сутки	30 сутки	45 сутки	60 сутки	90 сутки	360 сутки
0.05	2.19E+03	1.91E+03	1.29E+03	7.82E+02	5.67E+02	4.05E+02	4.03E+02	4.28E+02	4.89E+02	7.03E+02
0.5	9.66E+02	8.05E+02	4.79E+02	2.28E+02	1.36E+02	8.73E+02	8.98E+01	9.66E+01	1.10E+02	1.55E+02
1	7.26E+02	5.98E+02	3.35E+02	1.40E+02	6.99E+01	3.32E+01	3.30E+01	3.50E+01	3.90E+01	5.20E+01
1.5	6.40E+02	5.22E+02	2.89E+02	1.15E+02	5.37E+01	2.09E+01	1.95E+01	2.02E+01	2.15E+01	2.65E+01
2	6.13E+02	5.01E+02	2.75E+02	1.09E+02	5.00E+01	1.84E+01	1.67E+01	1.67E+01	1.74E+01	1.99E+01
3	6.86E+02	5.59E+02	3.08E+02	1.24E+02	6.00E+01	2.43E+01	2.13E+01	2.05E+01	1.97E+01	1.72E+01
3.55	8.39E+02	6.91E+02	3.91E+02	1.71E+02	9.09E+01	4.21E+01	3.54E+01	3.25E+01	2.90E+01	1.79E+01
4	1.08E+03	8.94E+02	5.25E+02	2.50E+02	1.45E+02	7.29E+01	5.97E+01	5.35E+01	4.53E+01	1.96E+01
5	1.21E+03	9.98E+02	5.88E+02	2.77E+02	1.61E+02	8.18E+01	6.70E+01	5.97E+01	5.00E+01	1.94E+01
6	1.24E+03	1.03E+03	6.04E+02	2.82E+02	1.64E+02	8.28E+01	6.77E+01	6.03E+01	5.04E+01	1.88E+01
7	1.24E+03	1.02E+03	6.01E+02	2.82E+02	1.63E+02	8.24E+01	6.73E+01	5.99E+01	4.99E+01	1.82E+01
8	1.18E+03	9.76E+02	5.74E+02	2.71E+02	1.58E+02	8.03E+01	6.56E+01	5.83E+01	4.85E+01	1.77E+01
9	1.01E+03	8.34E+02	4.90E+02	2.31E+02	1.34E+02	6.70E+01	5.45E+01	4.85E+01	4.08E+01	1.63E+01
9.28	8.65E+02	7.13E+02	4.10E+02	1.85E+02	1.03E+02	4.92E+01	4.05E+01	4.65E+01	3.13E+01	1.50E+01

**Рис. 6.** Вывод данных по динамике мощности поглощенной дозы в кроне деревьев на вкладке “Динамика мощности дозы”.

**Fig. 6.** Output of data on the dynamics of the absorbed dose rate in tree crown on “Dose rate dynamics” tab.

ной дозы внешнего  $\beta$ - и  $\gamma$ -излучения по высоте сосновых насаждений после аварийных радиоактивных выпадений. Исходными данными для проведения расчетов являются биометрические показатели древесных растений в зависимости от возраста и бонитета, плотность осаждения радионуклидов на земную поверхность и динамика их перераспределения в системе “поверхность кроны древесных растений – поверхностный слой почвы” в течение первого года после аварийных радиоактивных выпадений.

Специфичность объекта исследований определяется высокой задерживающей способностью поверхности кроны деревьев по отношению к аэральным радиоактивным выпадениям (до 95%) при относительно низкой интенсивности очищения ( $0.0021\text{--}0.033\text{ сут}^{-1}$ ) [11, 13]. При этом происходит формирование длительно действующих объемных источников ионизирующего излучения [9]. Показано, что в течение первого месяца после аварийных радиоактивных выпадений ЧАЭС до 80% дозы внешнего облучения было накоплено надземной фитомассой древесных растений, при этом 90% дозы было обусловлено  $\beta$ -излучением и только 10% –  $\gamma$ -излучением [24–26]. Соответственно, в этих условиях модельное представление о формировании дозы внешнего облучения по высоте древостоя от  $\beta$ - и  $\gamma$ -излучений радионуклидов, задержанных поверхностью кроны древесных растений и поверхностным слоем почвы в

виде бесконечно протяженных в продольном направлении блоков конечной толщины, вполне закономерно.

При соблюдении условия эквивалентности дозы оценка внешнего облучения генеративных и репродуктивных органов сосны обыкновенной может быть выполнена исходя из рассчитанной мощности в гомогенной воздушно-растительной среде крон древесных растений. В то же время для оценки дозы от внешнего  $\beta$ -излучения необходимо введение специальных поправок, учитывающих экранирование  $\beta$ -частиц поверхностными тканями [22]. В настоящее время разработан целый ряд программных средств для оценки доз облучения живых организмов FASSET-ERICA [27], EPIC [28], RESRAD-BIOTA [29], EDEN [30], ERICA Tool (version 1.2) [31], BiotaDC [32]. Они базируются на применении специфичных для каждого радионуклида и облучаемого организма коэффициентах дозового преобразования. В указанных программных средствах рассматривается формирование дозы внешнего и внутреннего облучения древесного растения, представленного в виде эллипсоида [4]. Однако исходные данные по активности радионуклидов в поверхностном слое почвы для оценки внешнего и в древесине для внутреннего облучения задаются пользователем точно при неизменных биометрических показателях древесных растений и условия квазиравновесного распределения радионуклидов между

компартаментами системы. Кроме того, данные программные средства не позволяют корректно оценить внешнюю дозу облучения древесных растений при преобладании поверхностного радиоактивного загрязнения в первые месяцы после аварийных радиоактивных выпадений. В них отсутствует дозиметрическая модель облучения основных точек роста и генеративных органов [4].

Таким образом, разработанное программное средство позволяет оценить динамику дозы внешнего  $\beta$ - и  $\gamma$ -облучения древесных растений в течение первого года после аварийных радиоактивных выпадений с учетом перераспределения в системе “поверхность кроны древесных растений – поверхностный слой почвы”. Соответственно это обуславливает получение новых знаний о формировании радиационного воздействия на древесные растения сосны обыкновенной в первый временной период после аварийных радиоактивных выпадений, что является основой для прогнозирования возникновения в них радиационно-индуцированных эффектов.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработано программное средство для оценки динамики мощности поглощенной дозы внешнего  $\beta$ - и  $\gamma$ -облучения по высоте древостоя сосновых насаждений в течение первого года после аварийных радиоактивных выпадений. Программное средство включает в себя четыре расчетных модуля по оценке: биометрических показателей древесных растений сосновых насаждений в зависимости от возраста и бонитета, плотности осадения радионуклидов из состава аварийных выпадений на земную поверхность, динамики активности радионуклидов в системе “поверхность кроны древесных растений – поверхностный слой почвы”, динамики мощности поглощенной дозы по высоте древостоя в сосновых насаждениях.

Результаты прогнозирования динамики мощности поглощенной дозы, полученные с применением разработанного программного средства, могут служить основой для проведения экспресс-оценок радиационного воздействия в первый год после аварийных радиоактивных выпадений.

### БЛАГОДАРНОСТИ

Статья подготовлена при поддержке гранта РФФ № 21-16-00004.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ICRP 2002. A framework for assessing the impact of ionizing radiation on non-human species. ICRP Publication 91 // Ann. ICRP. 2002. 33. № 3. 74 p.
2. Department of Energy. A Graded Approach for Evaluating Radiation Doses to Aquatic and Terrestrial Biota /

DOE-STD-1153-2002. Dept. Energy. Washington: D.C., 2002. 234 p.

3. *Beaugelin-Seiller K., Jasserand F., Garnier-Laplace J., Garie J.C.* Modeling radiological dose in non-human species: principles, computerization, and application // Health Phys. 2006. V. 90. № 5. P. 485–493.
4. ICRP 2008. Environmental Protection – the Concept and Use of Reference Animals and Plants. ICRP Publication 108 // Ann. ICRP. 2008. 38 (4–6). 245 p.
5. Modeling radiation exposure and radionuclide transfer for non-human species // Report of the Biota Working Group of EMRAS. Theme 3. Vienna: IAEA, 2010. 244 p.
6. ICRP 2017. Dose Coefficients for Non-human Biota Environmentally Exposed to Radiation. ICRP Publication 136 // Ann. ICRP. 2017. 46. № 2. 136 p.
7. Практические рекомендации по вопросам оценки радиационного воздействия на человека и биоту / Под общ. ред. И.И. Линге и И.И. Крышева. М.: ООО Сам Полиграфист, 2015. 265 с. [Prakticheskiye rekomendatsii po voprosam otsenki radiatsionnogo vozdeystviya na cheloveka i biotu / Pod obshch. red. I.I. Linge i I.I. Krysheva, M.: ООО Sam Poligrafist, 2015. 265 s. (In Russ.)]
8. *Спирин Е.В.* Современные проблемы экологической дозиметрии // Радиационная биология. Радиоэкология. 2009. Т. 49. № 3. С. 338–345. [*Spirin E.V.* Modern problems of ecological dosimetry // Radiats. biology. Radioecology. 2009. V. 49. № 3. P. 338–345 (In Russ.)]
9. *Криволюцкий Д.А., Тихомиров Ф.А., Федоров Е.А. и др.* Действие ионизирующей радиации на биогеоценоз. М.: Наука, 1988. 240 с. [*Krivolutskiy D.A., Tikhomirov F.A., Fedorov E.A. i dr.* Deystviye ioniziruyushchey radiatsii na biogeotsenoz. M.: Nauka, 1988. 240 s. (In Russ.)]
10. Итоги изучения и опыт ликвидации последствий аварийного загрязнения территорий продуктами деления урана / Под ред. А.И. Бурназяна. М.: Энергоатомиздат, 1990. 144 с. [Itogi izucheniya i opyt likvidatsii posledstviy avariynogo zagryazneniya territoriy produktami deleniya urana / Pod red. A.I. Burnazyana. M.: Energoatomizdat, 1990. 144 s. (In Russ.)]
11. Радиоактивное загрязнение территории Беларуси (в связи с аварией на ЧАЭС) / Под ред. В.И. Парфенова и Б.И. Якушева. Минск: Наука и техника, 1995. 582 с. [Radioaktivnoye zagryazneniye territorii Belarusi (v svyazi s avariyei na ChAES) / Pod red. V.I. Parfenova i B.I. Yakusheva. Minsk: Nauka i tekhnika, 1995. 582 s. (In Russ./)]
12. *Абатуров Ю.Д., Абатуров А.В., Быков А.В. и др.* Влияние ионизирующего излучения на сосновые леса в ближней зоне Чернобыльской АЭС. М.: Наука, 1996. 240 с. [*Abaturov Yu.D., Abaturov A.V., Bykov A.V. i dr.* Vliyanie ioniziruyushchego izlucheniya na sosnovyye lesa v blizhney zone Chernobyl'skoy AES. M.: Nauka, 1996. 240 s. (In Russ.)]
13. *Козубов Г.М., Таскаев А.И.* Радиобиологические исследования хвойных в районе Чернобыльской катастрофы (1986–2001 гг.). М.: ИПЦ Дизайн. Информация. Картография, 2002. 272 с. [*Kozubov G.M.,*

- Taskayev A.I.* Radiobiologicheskiye issledovaniya khvoynykh v rayone Chernobylskoy katastrofy (1986–2001 gg.). M.: IPTs Dizayn. Informatsiya. Kartografiya, 2002. 272 s. (In Russ.)]
14. *Израэль Ю.А., Стукин Е.Д.* Гамма-излучение радиоактивных выпадений. М.: Атомиздат, 1967. 224 с. [*Izrael Yu.A., Stukin E.D.* Gamma-izlucheniye radioaktivnykh vypadeniy. M.: Atomizdat, 1967. 224 s. (In Russ.)]
  15. *Коган Р.М., Назаров И.М., Фридман Ш.Д.* Основы гамма-спектрометрии природных сред. М.: Атомиздат, 1976. 368 с. [*Kogan R.M., Nazarov I.M., Fridman Sh.D.* Osnovy gamma-spektrometrii prirodnykh sred. M.: Atomizdat, 1976. 368 s. (In Russ.)]
  16. *Алексахин Р.М., Болтнева Л.И., Назаров И.М.* К характеристике гамма-поля радиоактивных выпадений в лесу // Лесоведение. 1972. № 1. С. 35–42. [*Alexakhin R.M., Boltneva L.I., Nazarov I.M.* K kharakteristike gamma-polya radioaktivnykh vypadeniy v lesu // Lesovedeniye. 1972. № 1. S. 35–42. (In Russ.)]
  17. *Спиридонов С.И., Фесенко С.В., Гераськин С.А. и др.* Оценка доз облучения древесных растений в отдаленный период после аварии на Чернобыльской АЭС // Радиационная биология. Радиоэкология. 2008. Т. 48. № 4. С. 443–449. [*Spiridonov S.I., Fesenko S.V., Geras'kin S.A. i dr.* Otsenka doz oblucheniya drevesnykh rasteniy v otdalennyy period posle avarii na Chernobylskoy AES // Radiats. biologiya. Radioekologiya. 2008. T. 48. № 4. S. 443–449. (In Russ.)]
  18. *Shvidenko A.Z., Schepaschenko D.G., Nilsson S., and Buluy Yu.I.* Tables and models of growth and productivity of forests of major forest forming species of northern Eurasia (standard and reference materials). Moscow, 2008. 886 p.
  19. *Атрошченко О.А.* Лесная таксация. Минск: БГТУ, 2009. 466 с. [*Atroshchenko O.A.* Lesnaya taksatsiya. Minsk: BGTU, 2009. 466 s. (In Russ.)]
  20. Методические указания по расчету радиационной обстановки в окружающей среде и ожидаемого облучения населения при кратковременных выбросах радиоактивных веществ в атмосферу (МПА-98). М.: Минатом России, 1999. 127 с. [Metodicheskiye ukazaniya po raschetu radiatsionnoy obstanovki v okruzhayushchey srede i ozhidayemogo oblucheniya naseleniya pri kratkovremennykh vybrosakh radioaktivnykh veshchestv v atmosferu (MPA-98). Moskva: Minatom Rossii, 1999. 127 s. (In Russ.)]
  21. *Переволоцкий А.Н., Спиринов Е.В., Переволоцкая Т.В., Спиридонов С.И.* Модель расчета мощности поглощенной дозы в вертикальном профиле почвы в острую фазу радиоактивных выпадений // Радиационная биология. Радиоэкология. 2018. Т. 58. № 4. С. 415–424. [*Perevolotskiy A.N., Spirin E.V., Perevolotskaya T.V., Spiridonov S.I.* Model rascheta moshchnosti pogloshchennoy dozy v vertikalnom profile pochvy v ostruyu fazu radioaktivnykh vypadeniy // Radiats. biologiya. Radioekologiya. 2018. V. 58. № 4. S. 415–424. (In Russ.)]
  22. *Спиринов Е.В.* Методические указания по оценке доз облучения компонентов агроэкосистем. Обнинск: ФГБНУ ВНИИРАЭ, 2014. 22 с. [*Spirin E.V.* Metodicheskiye ukazaniya po otsenke doz oblucheniya komponentov agroekosistem. Obninsk: FGBNU VNIIRAE, 2014. 22 s. (In Russ.)]
  23. ICRP 2008. Nuclear Decay Data for Dosimetric Calculations. ICRP Publication 107, Ann. ICRP 38. № 3. 2008. 93 p.
  24. *Пристер В.С., Ткаченко Н.В.* Распределение гамма-излучающих радионуклидов по различным компонентам хвойного леса в течение двух лет после радиоактивного загрязнения // I Всесоюз. радиобиол. съезд: Тез. докл., 21–27 августа 1989 г. М., 1989. С. 100. [*Prister V.S., Tkachenko N.V.* Raspredele-niye gamma-izluchayushchikh radionuklidov po razlichnym komponentam khvoynogo lesa v techenie 2-kh let posle radioaktivnogo zagryazneniya // I Vsesoyuznyy radiobiologicheskiy syezd: Tezisy dokl., 21–27 avgusta 1989 g. Moskva, 1989. S. 100. (In Russ.)]
  25. *Тихомиров Ф.А., Сидоров В.П.* Радиационные повреждения леса в зоне ЧАЭС // Биологические и радиоэкологические аспекты аварии на ЧАЭС: Материалы I Междунар. конф., 10–18 сентября 1990 г. М., 1990. С. 18. [*Tikhomirov F.A., Sidopov V.P.* Radiatsionnye povpezhdeniya leca v zone ChAEC // Biologicheskie i radioekologicheskie aspekty avarii na ChAEC: materialy I Mezhdunar. konf., 10–18 sentyabrya 1990 g. Moskva, 1990. S. 18. (In Russ.)]
  26. *Ушаков Б.А., Панфилов А.В., Василенко А.А.* Радиоактивное загрязнение лесов Брянской области // Лесное хозяйство. 1992. № 1. С. 29–30. [*Ushakov B.A., Panfilov A.V., Vasilenko A.A.* Radioaktivnoye zagryazneniye lesov Bryanskoj oblasti // Lesnoye khozyaystvo. 1992. № 1. С. 29–30. (In Russ.)]
  27. *Larsson C.M.* An overview of the ERICA integrated approach to the assessment and management of environmental risks from ionizing radiation // J. Environ. Radioact. 2008. V. 99. P. 1364–1370.
  28. *Golikov V., Brown J.* Internal and External Dose Models – a Deliverable Report for EPIC (Environmental Protection from Ionising Contaminants in the Arctic) / Contract EU: ICA2-CT-2000-10031 NRPA. Oslo, Norway, 2003. 35 p.
  29. Department of Energy. A Graded Approach for Evaluating Radiation Doses to Aquatic and Terrestrial Biota / DOE-STD-1153-2002. Dept. Energy. Washington, D.C., 2002. 234 p.
  30. *Beaugelin-Seiller K., Jasserand F., Garnier-Laplace J., Garie J.C.* Modeling radiological dose in non-human species: principles, computerization, and application // Health Phys. 2006. V. 90. № 5. P. 485–493.
  31. *Brown J.E., Alfonso B., Avila R. et al.* A new version of the ERICA tool to facilitate impact assessments of radioactivity on wild plants and animals // J. Environ. Radioact. 2016. V.153. P. 141–148.
  32. *Ulanovsky A.* Absorbed doses in tissue-equivalent spheres above radioactive sources in soil // Radiat. Environ. Biophys. 2014. V. 53. P. 729–737.

## Software Tool for Estimating the Absorbed Dose Rate in Pine Stands in Case of Accidental Radioactive Fallout

T. V. Perevolotskaya<sup>a</sup>, A. N. Perevolotsky<sup>a</sup>, and S. A. Geras'kin<sup>a,#</sup>

<sup>a</sup>*Russian Institute of Radiology and Agroecology, Obninsk, Russia*

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

The article presents the results of development of a software tool for assessing the dynamics of absorbed dose rate of external  $\beta$ - and  $\gamma$ -radiation by the height of the pine stands during first year after the accidental radioactive fallout, taking into account dynamics of their redistribution between compartments of the system "crown surface of woody plants – surface layer of soil". The main assumptions of the software implementation using mathematical modeling methods are formulated. The estimation of radionuclide deposition on the Earth's surface is based on the Gaussian model of atmospheric diffusion. The model (compartment) approach to the dynamics of redistribution of radionuclide activity from the composition of radioactive emissions is represented by a system of linear differential equations of first order. The calculation of absorbed dose rate is based on the integration of dose attenuation function of point source, taking into account the dose factor of accumulation of scattered radiation. The determining contribution of  $\beta$ -radiation from radionuclides located on surface of studied components of system is established. The developed software tool can be used for preliminary assessment of external  $\beta$ - and  $\gamma$ -radiation doses by the height of pine stands during first year after accidental radioactive fallout.

**Keywords:** radioactivity, crown surface of woody plants, surface layer of soil, radionuclides,  $\beta$ -radiation,  $\gamma$ -radiation, accidental radioactive fallout, absorbed dose rate, pine stands, emergency release

УДК 539.163:631.8:635.656

## КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ АГРОХИМИКАТОВ НА ПОСТУПЛЕНИЕ $^{137}\text{Cs}$ В РАСТЕНИЯ ГОРОХА

© 2022 г. О. Ю. Баланова<sup>1</sup>, Д. Г. Свириденко<sup>1</sup>, А. Н. Ратников<sup>1,\*</sup>, С. П. Арышева<sup>1</sup>,  
А. В. Панов<sup>1</sup>, Л. И. Ратникова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия

\*E-mail: ratnikov-51@mail.ru

Поступила в редакцию 04.03.2021 г.

После доработки 28.10.2021 г.

Принята к публикации 09.11.2021 г.

В вегетационном опыте на загрязненной  $^{137}\text{Cs}$  дерново-подзолистой почве с горохом (*Pisum sativum* L.) сорт Фараон проведена сравнительная оценка влияния органо-минерального удобрения СУПРОДИТ-М, органо-минерального комплекса ГЕОТОН и минеральных удобрений (НРК и азофоски) на содержание форм радионуклида в почве, продуктивность и качество гороха, и биологическую активность почвы. Минеральные удобрения и СУПРОДИТ-М вносили в почву, препаратом ГЕОТОН обрабатывали растения 2 раза за вегетационный период. Действие различных видов агрохимикатов оценивали по содержанию форм  $^{137}\text{Cs}$  в почве, по коэффициенту накопления ( $K_n$ )  $^{137}\text{Cs}$  в растениях, по изменению потенциальной активности дыхания (скорость эмиссии  $\text{CO}_2$  в почве), потенциальной активности денитрификации почвы, урожаю и показателям качества зерна и вегетативной массы гороха. Применение СУПРОДИТ-М способствовало снижению содержания в почве наиболее доступных для растений обменной и подвижной форм  $^{137}\text{Cs}$  по сравнению с использованием минеральных удобрений. Известно, что зерновые бобовые культуры (сем. *Fabaceae*) в условиях радиоактивного загрязнения почв накапливают в урожае  $^{137}\text{Cs}$  до 10 раз больше, чем яровые и озимые зерновые. Внесение в почву НРК стимулировало скорость эмиссии  $\text{CO}_2$  в почве под горохом по сравнению с контролем. Применение СУПРОДИТ-М и азофоски снижало потенциальную активность денитрификации почвы. Внесение СУПРОДИТ-М повышало урожай зерна и вегетативной массы гороха. Обработка вегетирующих растений препаратом ГЕОТОН по фону СУПРОДИТ-М дополнительно повышала урожайность гороха по сравнению с вариантом без обработки и относительно контроля. СУПРОДИТ-М ограничивал поступление  $^{137}\text{Cs}$  из почвы в растения по сравнению с минеральными удобрениями. Внесение СУПРОДИТ-М способствовало значительному уменьшению выноса  $^{137}\text{Cs}$  зерном гороха относительно контроля. Применение ГЕОТОНа по фону СУПРОДИТ-М дополнительно снижало вынос  $^{137}\text{Cs}$  зерном и вегетативной массой по сравнению с вариантом без обработки и относительно абсолютного контроля.

**Ключевые слова:** радиоактивное загрязнение, органо-минеральные удобрения, сельскохозяйственная продукция, коэффициент накопления, формы радионуклидов, биологическая активность почвы

DOI: 10.31857/S0869803122010039

Загрязнение сельскохозяйственных угодий радиоактивными веществами в результате аварии на Чернобыльской АЭС зафиксировано на территории 21 субъекта РФ, в наибольшей степени в Брянской, Тульской, Орловской и Калужской областях [1].

Важнейшими задачами агропромышленного производства на радиоактивно загрязненных угодьях являются получение экологически безопасной продукции, соответствующей существующим нормативам по содержанию в ней радионуклидов (РН) [2–4], а также сохранение и повышение плодородия почв. В технологиях возделывания сельскохозяйственных культур ведущая роль принадлежит созданию почвенных барьеров на пути транс-

порта РН из почвы в растения за счет их селективной сорбции минеральной частью почвенного поглощающего комплекса (ППК) и агрохимическим приемам, направленным на получение стабильных урожаев [5].

Уменьшение в последние годы объемов проведения агрохимических реабилитационных мероприятий на радиоактивно загрязненных угодьях приводит к необходимости поиска новых путей снижения подвижности РН в почве, ограничения их перехода из почвы в растения, а также дополнительных возможностей поддержания почвенного плодородия.

Для усовершенствования технологий возделывания сельскохозяйственных культур в условиях радиоактивного загрязнения были использованы разработанные и апробируемые в настоящее время на различных культурах и типах почв во ВНИИ радиологии и агроэкологии органо-минеральное удобрение СУПРОДИТ-М и органо-минеральный комплекс ГЕОТОН.

СУПРОДИТ-М состоит из двух компонентов: минерального и органического. Минеральный компонент представляет собой высокоселективный синтетический сорбент (КС) на основе трепела, содержащий элементы минерального питания растений и микроэлементы. Сырьем для органического компонента служит низинный торф, содержащий N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, K<sub>2</sub>O и биологически активные вещества – гуматы калия.

СУПРОДИТ-М имеет повышенную сорбционную способность по отношению к загрязняющим почву веществам, в том числе к РН техногенного происхождения (<sup>137</sup>Cs). Минералогический состав содержащегося в удобрении комплексного сорбента (КС), %: цеолит – 50, монтмориллонит – 15, мусковит – 4, SiO<sub>2</sub> – 4, аморфные алюмосиликаты – 27. КС имеет высокую емкость поглощения (126 ± 2 смоль(+)/кг). В его составе преобладают энергетически однородные сорбционные центры, характеризующиеся невысокой селективностью по отношению к <sup>137</sup>Cs. Емкость этих участков, тем не менее, очень велика (1050 смоль(+)/кг), и КС способен эффективно извлекать ионы <sup>137</sup>Cs<sup>+</sup> из нейтральных и слабокислых водных растворов [6].

Элементный состав СУПРОДИТ-М (%): N – 11,4; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> – 12; K<sub>2</sub>O – 18; Ca – 0.33; Mg – 0.92; органическое вещество – 30. Содержание микроэлементов (мг/кг): В – 1200; Мо – 1400. Удобрение обладает пролонгированным действием, применяется в дозах 650–1000 кг/га, общепринятых для минеральных удобрений в Нечерноземной зоне РФ [7, 8]. СУПРОДИТ-М защищен патентом Российской Федерации [9].

ГЕОТОН представляет собой комплексный универсальный жидкий концентрат темного цвета без запаха. Основным сырьем для его производства является низинный торф, который подвергается щелочному гидролизу, нейтрализацией фосфорной кислотой, аммонификации и введением в препарат основных элементов минерального питания растений. Элементный состав ГЕОТОН (%): N – 9–14, P – 23–25, K – 23–29; содержание органического вещества 32–45, в том числе гуматов калия 9–12. ГЕОТОН безвреден при использовании, хорошо растворим в воде, совместим с большинством используемых минеральных удобрений и средств защиты растений.

ГЕОТОН предназначен: а) для предпосевной обработки семян, корне- и клубнеплодов; б) для

поверхностной обработки вегетирующих растений: 1–2 раза за вегетационный период (зерновые, овощные, кормовые, технические культуры) с целью повышения устойчивости растений к воздействию неблагоприятных факторов, улучшения качества производимой продукции, в том числе снижения содержания РН. ГЕОТОН защищен патентом Российской Федерации № 2490241 [7, 8].

Цель исследования – оценить влияние СУПРОДИТ-М и ГЕОТОН на фоне применения различных минеральных удобрений на подвижность <sup>137</sup>Cs в почве, накопление его в зерне, на продуктивность и качество гороха, а также показатели биологической активности почвы, загрязненной <sup>137</sup>Cs.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Горох (*Pisum sativum* L.) сорт Фараон выращивали в вегетационном опыте на дерново-подзолистой супесчаной почве с внесением <sup>137</sup>Cs. Агрохимическая характеристика почвы: гумус – 1.2%; рН<sub>KCl</sub> 4.7; Нг – 4.12 и сумма поглощенных оснований – 1.80 смоль(+)/кг почвы соответственно; содержание P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> и K<sub>2</sub>O – 124 и 135 мг/кг почвы, Са и Mg – 1.17 и 0.21 смоль(+)/кг почвы соответственно.

Схема опыта: 1) <sup>137</sup>Cs – контроль; 2) <sup>137</sup>Cs + NPK; 3) <sup>137</sup>Cs + СУПРОДИТ-М; 4) <sup>137</sup>Cs + Азофоска (АЗФК); 5) <sup>137</sup>Cs + NPK + ГЕОТОН; 6) <sup>137</sup>Cs + СУПРОДИТ-М + ГЕОТОН; 7) <sup>137</sup>Cs + АЗФК + ГЕОТОН.

В сосуды помещали 6 кг почвы.

Высота сосуда 17 см, площадь поверхности – 359.5 см<sup>2</sup>.

Радионуклид вносили в виде раствора <sup>137</sup>CsCl (74 кБк/кг почвы) – 13.7 г/л раствора. СУПРОДИТ-М и АЗФК (16: 16: 16) вносили в почву (100 мг/кг почвы) в сухом виде в сопоставимых количествах с дозой внесения минеральных удобрений (СУПРОДИТ-М – 1.0 г/кг почвы; АЗФК – 0.7 г/кг почвы, в сухом виде). Удобрения (N<sub>100</sub>P<sub>120</sub>K<sub>180</sub>) (мг/кг) применяли в виде растворов солей NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, KН<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, KCl (5%-ный раствор). Обработку ГЕОТОНом растений гороха проводили дважды: в фазу конца стеблевания (5–6 листьев) и через 10 дней после первой обработки (в фазу начала бутонизации). Повторность опыта 4-кратная.

В каждый сосуд высевали по 10 замоченных семян гороха, после появления всходов оставляли по шесть растений/сосуд.

Перед закладкой опыта и после уборки урожая отбирали образцы почвы для определения форм нахождения <sup>137</sup>Cs и агрохимических показателей.

Агрохимические показатели почвы определяли:  $pH_{KCl}$  – потенциометрическим методом в суспензии почвы (1 моль/дм<sup>3</sup> раствор KCl при соотношении твердой и жидкой фаз 1 : 2.5), гидrolитическую кислотность – по методу Каппена в модификации ЦИНАО, гумус – по методу Тюрина в модификации ЦИНАО, подвижный  $P_2O_5$  и обменный  $K_2O$  – по методу Кирсанова в модификации ЦИНАО [10].

Определение форм  $^{137}Cs$  в почве проводили методом последовательных вытяжек: 1 н  $CH_3COONH_4$  – буфером  $pH = 7$  (обменная), раствором 1 н HCl (подвижная), раствором 3 н HCl (кислоторастворимая) и остаточная (прочносвязанная) при соотношении почва: раствор = 1 : 10 [11]. Содержание  $^{137}Cs$  в почве, растворах и растительном материале измеряли методом полупроводниковой гамма-спектрометрии с использованием детектора из сверхчистого германия “HPGe, ORTEC (США)” и анализатора спектра “IN 1200 GROUPE INTERTECHNIQUE” (Франция). Продуктивность гороха оценивали, используя показатели воздушно-сухой массы растений и зерен. Качество зерна и вегетативной массы гороха оценивали по содержанию сухого вещества, сырого протеина, клетчатки и жира (ГОСТ Р 50817–95). Коэффициент накопления  $^{137}Cs$  ( $K_n$ ) рассчитывали как отношение содержания  $^{137}Cs$  (Бк/кг) в сухой массе растений (зерно гороха) к содержанию его (Бк/кг) в почве.

В опыте оценивали действие удобрений (NPK, СУПРОДИТ-М, АЗФК) на показатели микробиологической активности почвы: потенциальная активность дыхания (скорость эмиссии  $CO_2$  из почвы) и потенциальная активность денитрификации в почве под горохом [10]. Отбор проб почвы для определения показателей биологической активности был произведен сразу после уборки урожая гороха (в фазу полной спелости).

Статистическую обработку результатов экспериментов проводили с использованием программы MS Excel 2019 с 95%-ным уровнем значимости результатов. Полученные экспериментальные данные представлены в виде средних арифметических, стандартных отклонений и наименьших существенных различий ( $HCp_{05}$ ) ( $p < 0.05$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

*Подвижность  $^{137}Cs$  в почве.* Биологическая доступность  $^{137}Cs$  определяется содержанием РН в обменной форме – наиболее легкодоступной для корневого усвоения растениями [12, 13].

Ранее в вегетационном опыте на радиоактивно загрязненной дерново-подзолистой супесчаной почве под кукурузой было выявлено, что внесение СУПРОДИТ-М способствовало снижению количества обменной и подвижной форм  $^{137}Cs$  на

35 и 26% по сравнению с применением NPK. Суммарное количество доступного  $^{137}Cs$  (обменный + подвижный) при внесении СУПРОДИТ-М снижалось по сравнению с контролем (почва без удобрений) на 70%. Отмечено увеличение доли фиксированной формы  $^{137}Cs$  на 7% по сравнению с использованием АЗФК [14].

Исследования на дерново-подзолистой почве с горохом показали, что содержание обменной формы  $^{137}Cs$  в вариантах с внесением NPK на 52–56, а подвижной – на 32–38% ниже, чем в контроле без удобрений (рис. 1).

СУПРОДИТ-М оказывал более заметное влияние на подвижность  $^{137}Cs$ , чем минеральные удобрения. Внесение СУПРОДИТ-М в почву способствовало снижению количества обменной и подвижной форм  $^{137}Cs$  на 22–29 и 19–26% соответственно по сравнению с использованием АЗФК и NPK. Количество доступного для растений  $^{137}Cs$  (суммарное содержание обменной и подвижной форм) при внесении СУПРОДИТ-М снижалось по сравнению с контролем на 60, а при внесении NPK – на 44–49%. Количество кислоторастворимой формы  $^{137}Cs$  в вариантах применения минеральных удобрений – в 1.7, а СУПРОДИТ-М – в 2.1 раза выше, чем в контроле. Содержание прочносвязанной формы возрастало до 1.4 раза по сравнению с контролем. Величина сорбции  $^{137}Cs$  при внесении СУПРОДИТ-М по сравнению с NPK возросла на 6%.

*Показатели биологической активности дерново-подзолистой супесчаной почвы.* Одним из наиболее масштабных этапов в круговороте углерода является его высвобождение из различных органических соединений в виде углекислоты, так называемое “дыхание почвы”. К аэробному дыханию способно такое большое число микроорганизмов, что по этому показателю судят об общей биологической активности почвы. Интенсивность дыхания почвы характеризует процессы минерализации органического вещества. Денитрификация почвы – процесс, играющий важнейшую роль в поддержании азотного баланса почвы [10].

Результаты эксперимента показали, что потенциальная активность дыхания почвы под горохом при внесении минеральных удобрений была на 22% выше, чем почвы без удобрений. При внесении СУПРОДИТ-М и АЗФК скорость эмиссии  $CO_2$  из почвы в целом оставалась на уровне контроля (табл. 1). Потенциальная активность денитрификации в почве в варианте с минеральными удобрениями была на 14.3% выше, чем при внесении СУПРОДИТ-М, и на 33.3% больше, чем при применении АЗФК (табл. 1). Внесение NPK стимулировало активность денитрификации на 14% по сравнению с контролем. Применение СУПРОДИТ-М и АЗФК достоверно

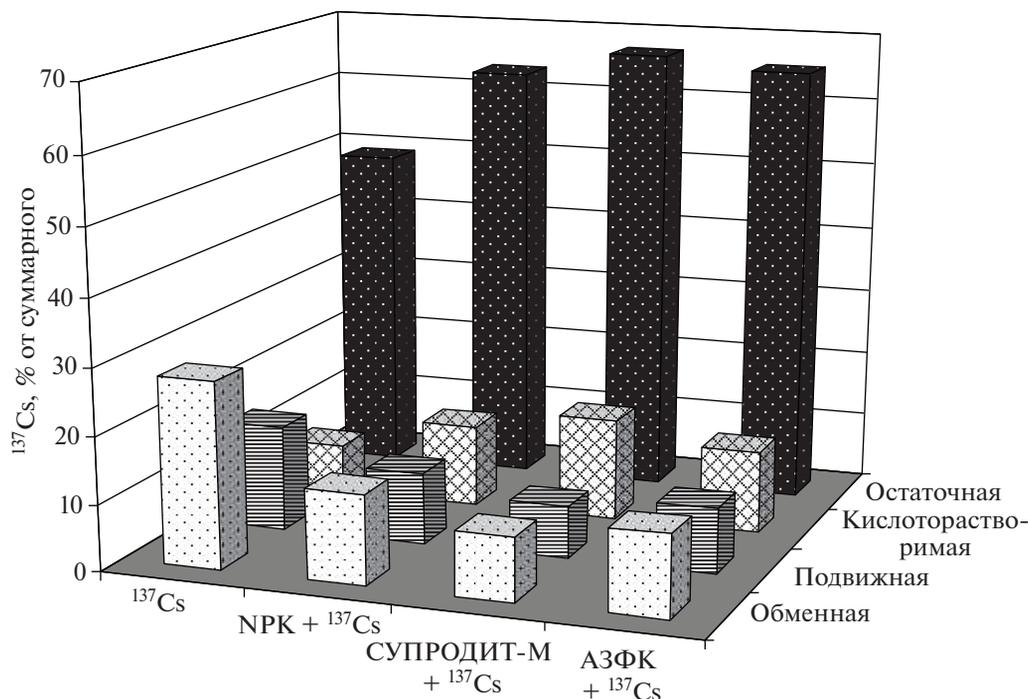


Рис. 1. Формы нахождения  $^{137}\text{Cs}$  в почве после внесения различных агрохимикатов.

Fig. 1. Forms of  $^{137}\text{Cs}$  occurrence in the soil after the introduction of various agrochemicals.

снижало непродуцируемые потери азота почвой. Внесение в почву NPK стимулировало скорость эмиссии  $\text{CO}_2$  из почвы под горохом на 22% по сравнению с контролем.

**Продуктивность гороха.** При внесении СУПРОДИТ-М в почву урожай зерна гороха повысился на 25%, вегетативной массы на 12% по сравнению с контролем. Применение АЗФК обеспечило рост урожайности на 34–35%. Наибольший положительный эффект в повышении урожая зерна и вегетативной массы получен в варианте с внесением NPK (табл. 2).

Урожай зерна гороха при обработке растений ГЕОТОН повысился на 15–17%, вегетативной

массы – на 8–37% по сравнению с вариантами без применения препарата. Наибольший положительный эффект действия ГЕОТОН на формирование урожайности гороха получен в варианте с внесением АЗФК. Урожай зерна гороха при использовании ГЕОТОН на фоне СУПРОДИТ-М на 15% выше, чем в варианте без обработки и на 43% (в 1.4 раза) относительно абсолютного контроля. При обработке растений препаратом ГЕОТОН на фоне СУПРОДИТ-М урожай вегетативной массы был такой же, как и без применения препарата. Урожай вегетативной массы в варианте СУПРОДИТ-М + ГЕОТОН на 8% выше по сравнению с абсолютным контролем.

Таблица 1. Потенциальная активность дыхания и денитрификации в почве при применении различных агрохимикатов

Table 1. Potential respiration activity and soil denitrification in the application of various agrochemicals

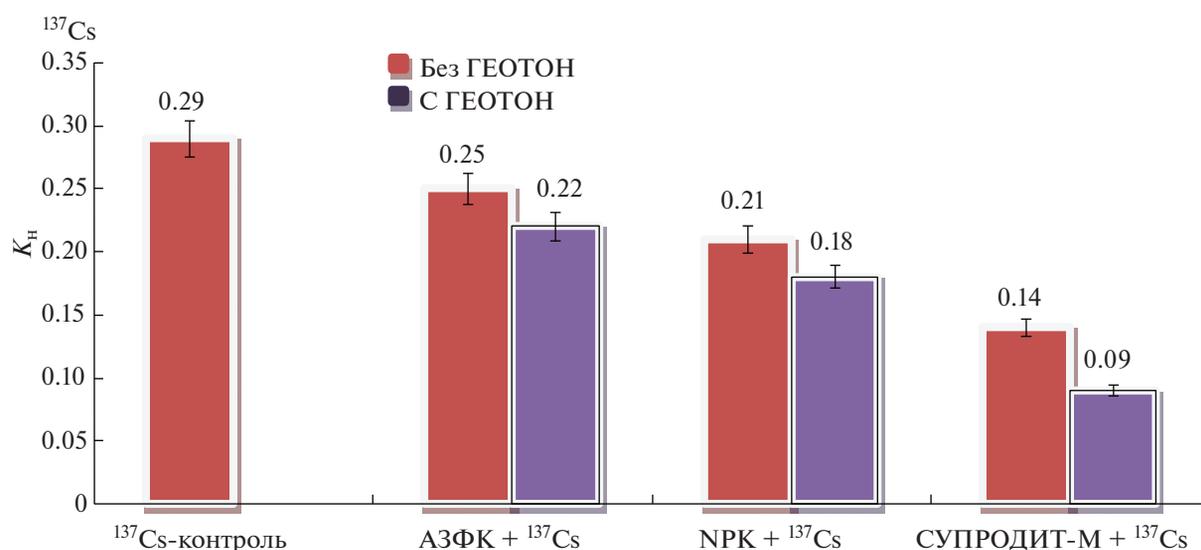
Вариант	Потенциальная активность	
	дыхания, $\mu\text{C-CO}_2$ , мг/кг почвы за сутки	денитрификации, $\mu\text{N-N}_2\text{O}$ , мг/кг почвы за сутки
$^{137}\text{Cs}$ – контроль	501	2.8
$^{137}\text{Cs}$ + NPK	613	3.2
$^{137}\text{Cs}$ + СУПРОДИТ-М	524	2.3
$^{137}\text{Cs}$ + АЗФК	549	2.4
$\text{HCP}_{05}$	23	0.2

**Таблица 2.** Влияние различных агрохимикатов на продуктивность гороха  
**Table 2.** Effect of different agrochemicals on pea productivity

Вариант	Урожай зерна, г/сосуд	Урожай вегетативной массы, г/сосуд
$^{137}\text{Cs}$ – контроль	10.9	10.3
$^{137}\text{Cs}$ + НРК	15.3	13.6
$^{137}\text{Cs}$ + СУПРОДИТ-М	13.6	11.5
$^{137}\text{Cs}$ + АЗФК	14.7	13.8
$^{137}\text{Cs}$ + НРК + ГЕОТОН	16.8	13.8
$^{137}\text{Cs}$ + СУПРОДИТ-М + ГЕОТОН	15.6	11.1
$^{137}\text{Cs}$ + АЗФК + ГЕОТОН	17.2	14.1
НСР <sub>05</sub>	1.0	1.1

*Накопление  $^{137}\text{Cs}$  в растениях гороха.* Для прогнозирования накопления  $^{137}\text{Cs}$  в урожае и сравнительной оценки эффективности агрохимических приемов по уменьшению перехода РН из почвы в растения использовали  $K_n$   $^{137}\text{Cs}$ . Известно, что зерновые бобовые культуры (сем. *Fabaceae*) в условиях радиоактивного загрязнения почв накапливают в урожае  $^{137}\text{Cs}$  до 10 раз больше, чем яровые и озимые зерновые [13]. При выращивании гороха на дерново-подзолистой супесчаной почве наибольшее количество  $^{137}\text{Cs}$  в зерне и вегетативной массе отмечено в контроле (рис. 2, 3). Применение минеральных удобрений и СУПРО-

ДИТ-М оказывало значительное влияние на переход  $^{137}\text{Cs}$  из почвы в растения.  $K_n$   $^{137}\text{Cs}$  в зерне гороха при внесении НРК снижался в 1.4 раза и в вегетативной массе – в 1.2 раза по сравнению с контролем без удобрений (рис. 2). Использование АЗФК оказалось менее эффективно, содержание  $^{137}\text{Cs}$  в зерне гороха снизилось в 1.2 раза, в вегетативной массе в 1.3 раза. СУПРОДИТ-М ограничивал поступление  $^{137}\text{Cs}$  из почвы в растения в 1.8–2.0 раза по сравнению с контролем. Содержание  $^{137}\text{Cs}$  в зерне и в вегетативной массе гороха при внесении СУПРОДИТ-М было в 1.5–1.8 и в

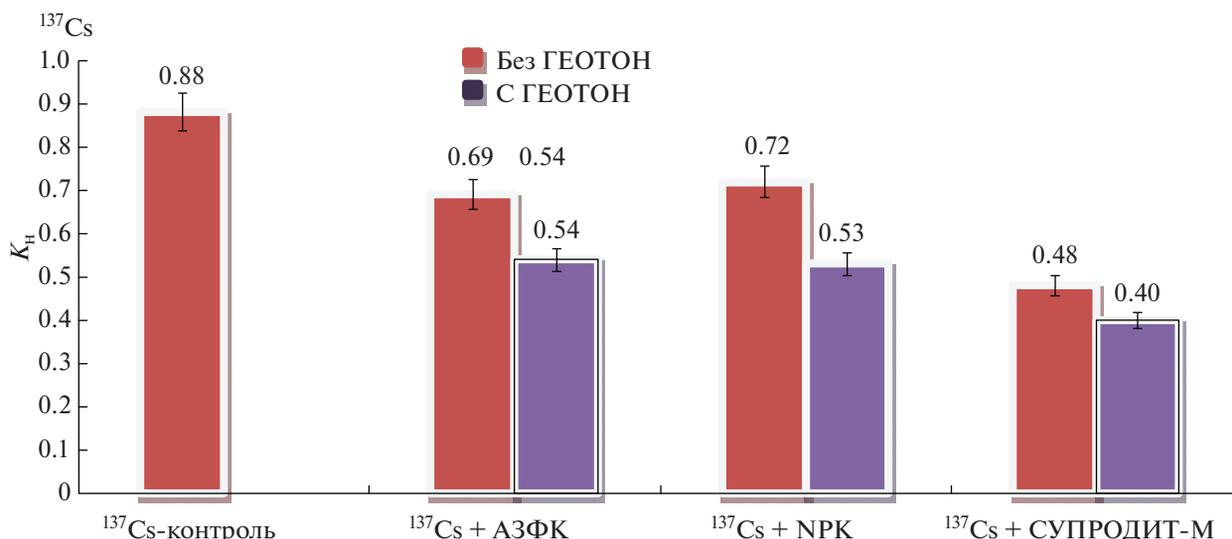


**Рис. 2.** Коэффициент накопления ( $K_n$ )  $^{137}\text{Cs}$  в зерне гороха при использовании различных агрохимикатов на дерново-подзолистой почве, (Бк/кг)/(Бк/кг).

Примечание. На этом и следующем рисунках обозначено цифрами – среднее арифметическое и “усами” – стандартное отклонение ( $p < 0.05$ ).

**Fig. 2.** Transfer factor ( $T_f$ )  $^{137}\text{Cs}$  in pea grain when using various agrochemicals on sod-podzolic soil, (Bq/kg)/(Bq/kg).

Note. This and the following figures indicate the arithmetic mean and the “mustache” standard deviation ( $p < 0.05$ ).



**Рис. 3.** Коэффициент накопления ( $K_n$ )  $^{137}\text{Cs}$  в вегетативной массе гороха при использовании различных агрохимикатов, при использовании различных агрохимикатов на дерново-подзолистой почве.

**Fig. 3.** Transfer factor ( $T_f$ )  $^{137}\text{Cs}$  in pea vegetative mass when using various agrochemicals on sod-podzolic soil.

1.4–1.5 раза ниже, чем в вариантах с минеральными удобрениями.

Обработка растений ГЕОТОН не только повышала продуктивность гороха, но и способствовала снижению накопления  $^{137}\text{Cs}$  в урожае: на фоне АЗФК в 1.1 (зерно) и в 1.3 раза (вегетативная масса), а при внесении NPK в 1.2 и в 1.4 раза соответственно (рис. 2 и 3).  $K_n$   $^{137}\text{Cs}$  в зерне и вегетативной массе при внесении СУПРОДИТАМ и использовании ГЕОТОН в 1.6 и в 1.2 раза ниже, чем в варианте без обработки ГЕОТОН. Положительный эффект совместного применения АЗФК и ГЕОТОН по снижению перехода  $^{137}\text{Cs}$  из почвы в растения и накопления в зерне и вегетативной массе гороха по сравнению с контролем составил 1.3 и 1.6 раза. При обработке растений ГЕОТОН на фоне СУПРОДИТ-М  $K_n$   $^{137}\text{Cs}$  в зерне и вегетативной массе в 2.4 и в 1.4 раза ниже, чем в варианте с АЗФК. Необходимо отметить, что снижение накопления  $^{137}\text{Cs}$  в зерне при применении ГЕОТОНа происходило при увеличении вегетативной массы гороха.

Внесение АЗФК способствовало увеличению выноса  $^{137}\text{Cs}$  зерном гороха на 16% (табл. 3). Обработка ГЕОТОН в варианте с АЗФК дополнительно увеличила вынос РН зерном на 5%, а в варианте с NPK – напротив, снизила на 6% по сравнению с вариантом без препарата. Относительно абсолютного контроля ( $^{137}\text{Cs}$ ) этот показатель увеличился на 22% в варианте АЗФК +  $^{137}\text{Cs}$  + ГЕОТОН и уменьшился на 4% в варианте NPK +  $^{137}\text{Cs}$  + ГЕОТОН.

Внесение СУПРОДИТ-М способствовало значительному уменьшению выноса  $^{137}\text{Cs}$  зерном

гороха на 39% относительно контроля. Применение ГЕОТОНа по фону СУПРОДИТ-М дополнительно снизило этот показатель на 26% по сравнению с вариантом без обработки, а относительно абсолютного контроля снизило на 55%.

Вынос  $^{137}\text{Cs}$  вегетативной массой гороха был максимальный в варианте с NPK: на 9% выше, чем в контроле; с АЗФК – только на 4%. Минимальный вынос РН вегетативной массой был при внесении в почву СУПРОДИТ-М: на 39% ниже контрольного. Обработка растений ГЕОТОНом дополнительно снижала вынос  $^{137}\text{Cs}$  вегетативной массой гороха: в варианте с АЗФК и СУПРОДИТ-М на 19%, с NPK – на 26% относительно варианта без обработки. В варианте СУПРОДИТ-М +  $^{137}\text{Cs}$  + ГЕОТОН вынос РН вегетативной массой гороха оказался в 2 раза ниже относительно абсолютного контроля ( $^{137}\text{Cs}$ ).

Так как питательные элементы для растений быстрее усваиваются из минеральных удобрений, чем из удобрения-сорбента, то и растения в этих вариантах растут и развиваются лучше, что, соответственно, увеличивает и урожай. Поэтому вынос  $^{137}\text{Cs}$  урожаем (зерном и соломой) значительно выше при внесении в почву минеральных удобрений по сравнению с СУПРОДИТ-М.

*Качество зерна и вегетативной массы гороха.* При выращивании сельскохозяйственных культур на загрязненной радионуклидами почве важно контролировать не только содержание радионуклидов в растениях, но и качество получаемой продукции. В эксперименте оценивали качество зерна гороха по показателям: содержание сухого вещества, сырого протеина, клетчатки и жира

**Таблица 3.** Вынос  $^{137}\text{Cs}$  с урожаем гороха при применении различных агрохимикатов  
**Table 3.** The removal of  $^{137}\text{Cs}$  with the yield of peas in the application of various agrochemicals

Вариант	Удельная активность $^{137}\text{Cs}$ в почве, Бк/кг	Вынос $^{137}\text{Cs}$ , Бк/сосуд	
		зерно	вегетативная масса
$^{137}\text{Cs}$ – контроль	103960	232	371
$^{137}\text{Cs}$ + НРК	109475	239	729
$^{137}\text{Cs}$ + СУПРОДИТ-М	104625	141	409
$^{137}\text{Cs}$ + АЗФК	107960	271	697
$^{137}\text{Cs}$ + НРК + ГЕОТОН		223	540
$^{137}\text{Cs}$ + СУПРОДИТ-М + ГЕОТОН		105	331
$^{137}\text{Cs}$ + АЗФК + ГЕОТОН		284	565
НСР <sub>05</sub>		20	31

**Таблица 4.** Влияние агрохимикатов на качество зерна гороха  
**Table 4.** Effect of agrochemicals on the quality of pea grain

Вариант	Содержание в зерне, %				
	зола	сырой протеин	жир	клетчатка	сухое вещество
$^{137}\text{Cs}$ – контроль	2.02	17.01	2.47	3.72	89.32
$^{137}\text{Cs}$ + НРК	2.06	18.28	2.57	3.90	89.34
$^{137}\text{Cs}$ + СУПРОДИТ-М	2.18	17.81	2.40	4.37	89.55
$^{137}\text{Cs}$ + АЗФК	2.07	17.69	2.50	3.88	89.38
НСР <sub>05</sub>	0.24	0.76	0.17	0.61	0.36

(табл. 4). Достоверных различий по содержанию сухого вещества и золы в зерне гороха на фоне минеральных удобрений и СУПРОДИТ-М не выявлено. Содержание клетчатки в варианте с СУПРОДИТ-М увеличилось по сравнению с контролем на 0.65%. При внесении СУПРОДИТ-М и АЗФК в почву содержание сырого протеина в зерне было на 0.68–0.80% выше, чем в контроле. Применение НРК в вегетационном опыте обеспечило получение зерна с наибольшим содержанием сырого протеина.

Внесение минеральных удобрений повысило урожай вегетативной массы гороха на 33–40%, а внесение СУПРОДИТ-М – на 25% по сравнению с контролем соответственно (табл. 2). Результаты определения качества вегетативной массы гороха свидетельствуют о том, что внесение в почву СУПРОДИТ-М привело к повышению содержания золы на 1.62% по сравнению с контролем,

при использовании АЗФК – на 1.26% выше, чем на контроле.

Достоверных различий по влиянию СУПРОДИТ-М и минеральных удобрений на такие показатели, как содержание жира и сухого вещества, во всех вариантах опыта не установлено (табл. 5). Но следует отметить, что при внесении СУПРОДИТ-М содержание жира в вегетативной массе было максимальным – 2.50%. Применение СУПРОДИТ-М и минеральных удобрений обеспечивает повышение содержания сырого протеина в вегетативной массе гороха на 1.38–2.71% по сравнению с контролем. Содержание сырого протеина в растениях в вариантах с СУПРОДИТ-М и НРК на 1.18–1.33% выше, чем при использовании АЗФК (табл. 5).

Использование СУПРОДИТ-М обеспечивает наибольший положительный эффект в получении более качественной продукции по содержанию сырого протеина.

**Таблица 5.** Влияние агрохимикатов на качество вегетативной массы гороха  
**Table 5.** Effect of agrochemicals on the quality of pea vegetative mass

Вариант	Содержание в вегетативной массе, %				
	зола	сырой протеин	жир	клетчатка	сухое вещество
$^{137}\text{Cs}$ – контроль	3.05	11.06	2.09	33.42	91.88
$^{137}\text{Cs}$ + НРК	3.69	13.62	2.29	32.64	92.33
$^{137}\text{Cs}$ + СУПРОДИТ-М	4.67	13.77	2.50	34.40	92.37
$^{137}\text{Cs}$ + АЗФК	4.31	12.44	2.22	33.59	92.43
НСР <sub>05</sub>	0.76	1.08	0.46	2.21	0.81

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследований показали, что применение СУПРОДИТ-М при выращивании гороха на дерново-подзолистой супесчаной почве оказало существенное влияние на подвижность  $^{137}\text{Cs}$  в почве и его закрепление в почвенно-поглощающем комплексе. Снижение содержания наиболее доступных для растений обменной и подвижной форм  $^{137}\text{Cs}$  в почве составило 22–29 и 19–26% соответственно по сравнению с использованием минеральных удобрений.

Внесение минеральных удобрений и СУПРОДИТ-М оказывало значительное влияние на переход  $^{137}\text{Cs}$  из почвы в растения гороха. СУПРОДИТ-М ограничивал поступление  $^{137}\text{Cs}$  в растения в 1.8–2.0 раза по сравнению с контролем. Эффективность СУПРОДИТ-М по снижению накопления  $^{137}\text{Cs}$  в зерне гороха в 1.8 раза выше, чем азотоски.

Содержание  $^{137}\text{Cs}$  в зерне и вегетативной массе гороха при внесении СУПРОДИТ-М было в 1.5–1.8 и 1.4–1.5 раза ниже, чем в вариантах с минеральными удобрениями.  $K_n$   $^{137}\text{Cs}$  зерном и вегетативной массой при внесении СУПРОДИТ-М и использовании комплекса ГЕОТОН в 1.6 и в 1.2 раза ниже, чем в варианте без обработки препаратом. При применении ГЕОТОН на фоне СУПРОДИТ-М  $K_n$   $^{137}\text{Cs}$  зерном и вегетативной массой в 2.4 и в 1.4 раза ниже, чем в варианте с азотоской.

При внесении СУПРОДИТ-М в почву урожай зерна гороха повысился на 25%, а вегетативной массы – на 12% по сравнению с контролем. Наибольший положительный эффект действия ГЕОТОН на продуктивность гороха получен при внесении азотоски. Урожай зерна при использовании ГЕОТОН на фоне СУПРОДИТ-М на 15% выше, чем в варианте без обработки, и на 43% – относительно контроля. Урожай вегетативной

массы в варианте СУПРОДИТ-М + ГЕОТОН на 8% выше по сравнению с контролем.

СУПРОДИТ-М оказывал положительное влияние на качество зерна гороха. Содержание сырого протеина в зерне увеличилось по сравнению с контролем на 0.80, клетчатки – на 0.65%. Содержание в вегетативной массе гороха сырого протеина, клетчатки, жира, золы было также наибольшим при применении СУПРОДИТ-М.

Потенциальная активность дыхания почвы под горохом при внесении минеральных удобрений на 22% выше, чем в контроле. СУПРОДИТ-М снижал непродуцируемые потери азота почвой.

Внесение СУПРОДИТ-М способствовало значительному уменьшению выноса  $^{137}\text{Cs}$  зерном гороха на 39% относительно контроля. Применение ГЕОТОН на фоне СУПРОДИТ-М снизило вынос  $^{137}\text{Cs}$  на 26% по сравнению с вариантом без обработки и на 55% относительно абсолютного контроля. Обработка ГЕОТОНом по фону СУПРОДИТ-М снижала вынос  $^{137}\text{Cs}$  вегетативной массой гороха на 19% относительно варианта без обработки и в 2 раза по сравнению с контролем ( $^{137}\text{Cs}$ ).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Панов А.В., Санжарова Н.И., Шубина О.А. и др. Современное состояние и прогноз загрязнения  $^{137}\text{Cs}$  сельскохозяйственных угодий Брянской, Калужской, Орловской и Тульской областей, подвергшихся воздействию аварии на Чернобыльской АЭС // Радиация и риск. 2017. Т. 26. № 3. С. 66–74. [Panov A.V., Sanzharova N.I., Shubina O.A. et al. Sovremennoe sostoyanie i prognoz zagryazneniya  $^{137}\text{Cs}$  sel'skhozajstvennykh ugodij Bryanskoj, Kaluzhskoj, Orlovskoj i Tul'skoj oblastej, podvergshihysya vozdejstviyu avarii na Chernobyl'skoj AES // Radiaciya i risk. 2017. V. 26. № 3. P. 66–74 (In Russ.)]

2. Ветеринарно-санитарные требования к радиационной безопасности кормов, кормовых добавок, сырья кормового. Допустимые уровни содержания  $^{90}\text{Sr}$  и  $^{137}\text{Cs}$ . Ветеринарные правила и нормы ВП 13.5.13/06-01 // Ветеринарная патология. 2002. № 4. С. 44–45. [Veterinarno-sanitarnyye trebovaniya k radiacionnoy bezopasnosti kormov, kormovyh dobavok, syr'ya kormovogo. Dopustimyye urovni sodержaniya  $^{90}\text{Sr}$  i  $^{137}\text{Cs}$ . Veterinarnyye pravila i normy VP 13.5.13/06-01 // Veterinarnaya patologiya. 2002. № 4. P. 44–45 (In Russ.)]
3. Гигиенические требования к безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Санитарно-эпидемиологические правила и нормы СанПиН 2.3.2.1078-01 // Бюллетень нормативных и методических документов госсанэпиднадзора. 2002. № 4 (10). С. 9–144. [Gigienicheskiye trebovaniya k bezopasnosti i pishchevoy cennosti pishchevyyh produktov. Sanitarno-epidemiologicheskiye pravila i normy SanPiN 2.3.2.1078-01 // Byulleten' normativnyh i metodicheskikh dokumentov gossanepidnadzora. 2002. № 4 (10). S. 9–144 (In Russ.)]
4. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы СанПиН 2.3.2.2650-10. (Дополнения и изменения №18 к СанПиН 2.3.2.1078-01). М.: Минздрав РФ, 2010. 13 с. [Sanitarno-epidemiologicheskiye pravila i normativy SanPiN 2.3.2.2650-10. (Dopolneniya i izmeneniya №18 k SanPiN 2.3.2.1078-01). M.: Minzdrav RF, 2010. 13 p. (In Russ.)]
5. Санжарова Н.И., Ратников А.Н., Спиридонов С.И. и др. Технологические приемы, обеспечивающие повышение устойчивости агроценозов, восстановление нарушенных земель, оптимизацию земледелия и получение соответствующей нормативам сельскохозяйственной продукции / Под ред. Н.И. Санжаровой. Обнинск: ВНИИСХРАЭ, 2010. 180 с. [Sanzharova N.I., Ratnikov A.N., Spiridonov S.I. i dr. Tekhnologicheskiye priemy, obespechivayushchie povysheniye ustoychivosti agrocenozov, vosstanovleniye narushennyh zemel', optimizatsiyu zemledeliya i polucheniye sootvetstvuyushchej normativam sel'skohozyajstvennoj produkcii / Pod red. N.I. Sanzharovoj. Obninsk: VNIISKHRAE, 2010. 180 p. (In Russ.)]
6. Коноплева И.В. Селективная сорбция радиоцезия сорбентами на основе природных глин // Сорбционные и хроматографические процессы. 2016. Т. 16. № 4. [Konopleva I.V. Selektivnaya sorbciya radioceziya sorbentami na osnove prirodnyh glin // Sorbcionnyye i hromatograficheskiye processy. 2016. V. 16. № 4. (In Russ.)]
7. Баланова О.Ю., Ратников А.Н., Свириденко Д.Г. и др. Влияние новых комплексных удобрений СУПРОДИТ-М и ГЕОТОН на продуктивность, качество зерна ячменя и биологическую активность почвы // Науч. тр. КФ РГАУ–МСХА им. К.А. Тимирязева. Юбилейный выпуск (№ 11) к 150-летию РГАУ–МСХА им. К.А. Тимирязева. Калуга, 2015. С. 73–78. [Balanova O.Yu., Ratnikov A.N., Sviridenko D.G. i dr. Vliyanie novyyh kompleksnyh udobrenij SUPRODIT-M i GEOTON na produktivnost', kachestvo zerna yachmenya i biologicheskuyu aktivnost' pochvy // Nauch. tr. KF RGAU–MSKHA im. K.A. Timiryazeva. Yubilejnyj vypusk (№ 11) k 150-letiyu RGAU–MSKHA im. K.A. Timiryazeva. Kaluga, 2015. S. 73–78 (In Russ.)]
8. Ратников А.Н., Свириденко Д.Г., Попова Г.И. и др. Эффективность удобрения пролонгированного действия СУПРОДИТ-М и органо-минерального комплекса ГЕОТОН при возделывании зерновых культур в условиях радиоактивного загрязнения // Вестн. аграрной науки. 2018. № 4 (73). С. 36–46. [Ratnikov A.N., Sviridenko D.G., Popova G.I. i dr. Effektivnost' udobreniya prolongirovannogo dejstviya SUPRODIT-M i organo-mineral'nogo kompleksa GEOTON pri vozdeleyvanii zernovyh kul'tur v usloviyah radioaktivnogo zagryazneniya // Vestnik agrarnoj nauki. 2018. № 4 (73). P. 36–46 (In Russ.)]
9. Ратников А.Н., Петров К.В., Анисимов В.С. и др. Способ получения органо-минерального комплексного удобрения. Пат. 2426711, РФ // Б.И. 2011. № 23. [Ratnikov A.N., Petrov K.V., Anisimov V.S. i dr. Sposob polucheniya organo-mineral'nogo kompleksnogo udobreniya. Pat. 2426711, RF // B.I. 2011. № 23 (In Russ.)]
10. Практикум по агрохимии: учеб. пособие. 2-е изд., перераб. и доп. / Под ред. В.Г. Минеева. М.: МГУ, 2001. 686 с. [Praktikum po agrohimii: ucheb. posobie. 2-e izd., pererab. i dop. / Pod red. V.G. Mineeva. M.: MGU, 2001. 686 s. (In Russ.)]
11. Методические указания по обследованию почв сельскохозяйственных угодий и продукции растениеводства на содержание тяжелых металлов, остаточных количеств пестицидов и радионуклидов. М.: ЦИНАО, 1995. 45 с. [Metodicheskiye ukazaniya po obsledovaniyu pochv sel'skohozyajstvennyh ugodij i produkcii rastenievodstva na sodержaniye tyazhelyh metallov, ostatochnyyh kolichestv pesticidov i radionuklidov. M.: CINAO, 1995. 45 s. (In Russ.)]
12. Юдинцева Е.В., Жигарева Т.Л., Левина Э.М. и др. Изменение доступности радионуклидов растениям при химизации сельского хозяйства // Агрохимия. 1982. № 5. С. 82–88. [Yudinceva E.V., Zhigareva T.L., Levina E.M. et al. Izmeneniye dostupnosti radionuklidov rasteniyam pri himizatsii sel'skogo hozyajstva // Agrohimiya. 1982. № 5. P. 82–88 (In Russ.)]
13. Санжарова Н.И., Фесенко С.В., Котик В.А., Спиридонов С.И. Behavior of radionuclides in meadows and efficiency of countermeasures // Radiat. Prot. Dosim. 1996. V. 64. № 1–2. P. 43–48.
14. Арышева С.П., Попова Г.И., Баланова О.Ю. и др. Влияние новых комплексных органо-минеральных удобрений на продуктивность кукурузы и транслокацию  $^{137}\text{Cs}$  в растения // Агрохимия. 2018. № 3. С. 26–33. [Arysheva S.P., Popova G.I., Balanova O.Yu. i dr. Vliyanie novyyh kompleksnyh organo-mineral'nyh udobrenij na produktivnost' kukuruzy i translokatsiyu  $^{137}\text{Cs}$  v rasteniya // Agrohimiya. 2018. № 3. P. 26–33 (In Russ.)]

## Comprehensive Assessment of the Impact of Various Types of Agrochemicals on the Intake of $^{137}\text{Cs}$ in Pea Plants

O. Yu. Balanova<sup>a</sup>, D. G. Sviridenko<sup>a</sup>, A. N. Ratnikov<sup>a,#</sup>, S. P. Arysheva<sup>a</sup>,  
A. V. Panov<sup>a</sup>, and L. I. Ratnikova<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Russian Research Institute of Radiology and Agroecology, Obninsk, Russia

<sup>#</sup>E-mail: ratnikov-51@mail.ru

In the vegetative experiment on polluted  $^{137}\text{Cs}$  soddy-podzolic soil with peas (*Pisum sativum* L.) variety Pharaon a comparative assessment of the effect of organo-mineral fertilizer SUPRODIT-M, organo-mineral complex GEOTON and mineral fertilizers (NPK and azofoska) on the content of radionuclide forms in the soil, soil biological activity, productivity and quality of peas. Mineral fertilizers and SUPRODIT-M were introduced into the soil, the preparation GEOTON treated plants 2 times during the growing season. The effect of various types of agrochemicals was evaluated by changes in the potential activity of respiration (the rate of  $\text{CO}_2$  emission in the soil), the potential activity of soil denitrification, the content of  $^{137}\text{Cs}$  forms in the soil, the accumulation coefficient (AC)  $^{137}\text{Cs}$  in plants, yield and indicators of grain quality and vegetative mass of peas. The use of SUPRODIT-M helped to reduce the content in the soil of the most accessible for plants exchange and mobile forms of  $^{137}\text{Cs}$  compared with the use of mineral fertilizers. It is known that leguminous crops (Fabaceae) under conditions of radioactive soil contamination accumulate  $^{137}\text{Cs}$  in the yield up to 10 times more than spring and winter cereals. Adding NPK to the soil stimulated the rate of  $\text{CO}_2$  emission in the soil under the peas compared to the control. Application SUPRODIT-M and azofoska reduced the potential activity of denitrification of the soil. Making SUPRODIT-M increased the grain yield and vegetative mass of peas. Treatment of vegetating plants with GEOTON on the background of SUPRODIT-M additionally increased the yield of peas compared to the option without treatment and relative to control. The greatest yield of pea grain is obtained from the use of GEOTON against the background of mineral fertilizers. SUPRODIT-M limit transfer of  $^{137}\text{Cs}$  from soil to plants compared with mineral fertilizers. Introduction of SUPRODIT-M contributed to a significant reduction in the removal of  $^{137}\text{Cs}$  grain peas relative to the control. The use of GEOTON on the background of SUPRODIT-M further reduced the removal of  $^{137}\text{Cs}$  by grain and vegetative mass compared to the variant without treatment and relatively absolute control. SUPRODIT-M had a positive impact on indicators of quality of grain and vegetative mass of peas.

**Keywords:** radiation contamination, organomineral fertilizers, agricultural products, transfer factor, forms of radionuclides, biological activity of the soil

УДК 539.163:631.4

## ЕСТЕСТВЕННЫЕ РАДИОНУКЛИДЫ ( $^{226}\text{Ra}$ , $^{232}\text{Th}$ , $^{40}\text{K}$ ) В ПОЧВООБРАЗУЮЩИХ ПОРОДАХ ЕВРОПЕЙСКОЙ ТЕРРИТОРИИ РОССИИ

© 2022 г. Е. В. Мингареева<sup>1,2,\*</sup>, Б. Ф. Апарин<sup>1</sup>, С. В. Корвин<sup>2</sup>,  
Н. И. Санжарова<sup>2</sup>, Е. Ю. Сухачева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Центральный Музей почвоведения им. В.В. Докучаева – филиал Федерального исследовательского центра  
Почвенный институт им. В.В. Докучаева, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии, Обнинск, Россия

\*E-mail: elena.mingareeva@yandex.ru

Поступила в редакцию 29.07.2020 г.

После доработки 25.10.2021 г.

Принята к публикации 09.11.2021 г.

Установлены диапазоны и средние значения удельной активности естественных радионуклидов ( $^{226}\text{Ra}$ ,  $^{232}\text{Th}$  и  $^{40}\text{K}$ ) в основных литологических типах почвообразующих пород (красно-бурые глины, лессовидные, покровные, моренные, озерно-ледниковые, водно-ледниковые, аллювиальные отложения и элюво-делювий коренных карбонатных отложений). Наиболее низкое содержание радионуклидов характерно для аллювиальных и водно-ледниковых отложений, а наиболее высокое – в озерно-ледниковых, элюво-делювии коренных карбонатных отложений и моренах. Выявлено на следование естественных радионуклидов почвообразующими породами от кор выветривания, наиболее явно проявляющееся для пород ледникового генезиса и элюво-делювия карбонатных отложений. Установлена взаимосвязь содержания радионуклидов с фракциями гранулометрического состава.

**Ключевые слова:** естественные радионуклиды, почвообразующие породы, коры выветривания

**DOI:** 10.31857/S086980312201009X

В почвах всегда содержатся естественные радионуклиды (ЕРН), основным источником которых являются почвообразующие породы (ПП). ПП можно рассматривать как начальное состояние почвенной системы – почва в нулевой момент времени [1]. Сравнение данных по удельной активности ЕРН в генетических горизонтах почв и ПП дает возможность решать ряд важных задач: оценить роль почвообразующих процессов в распределении ЕРН в профиле разных типов почв; выявить связь содержания радионуклидов (РН) в почвах и ПП; провести типизацию, а также районирование ПП по содержанию ЕРН. Такие исследования приобретают все большую актуальность в связи с прогрессирующим загрязнением почв техногенными РН в результате развития ядерной энергетики, применения радиоактивных источников в промышленности, медицине и наложением их на содержание ЕРН в почвах.

В настоящее время накоплен значительный фактический материал по содержанию РН в почвах России и мира [2–8]. Однако эти данные чаще всего усреднены и не учитывают литологический тип ПП – носителя ЕРН. Разнообразие типов ПП

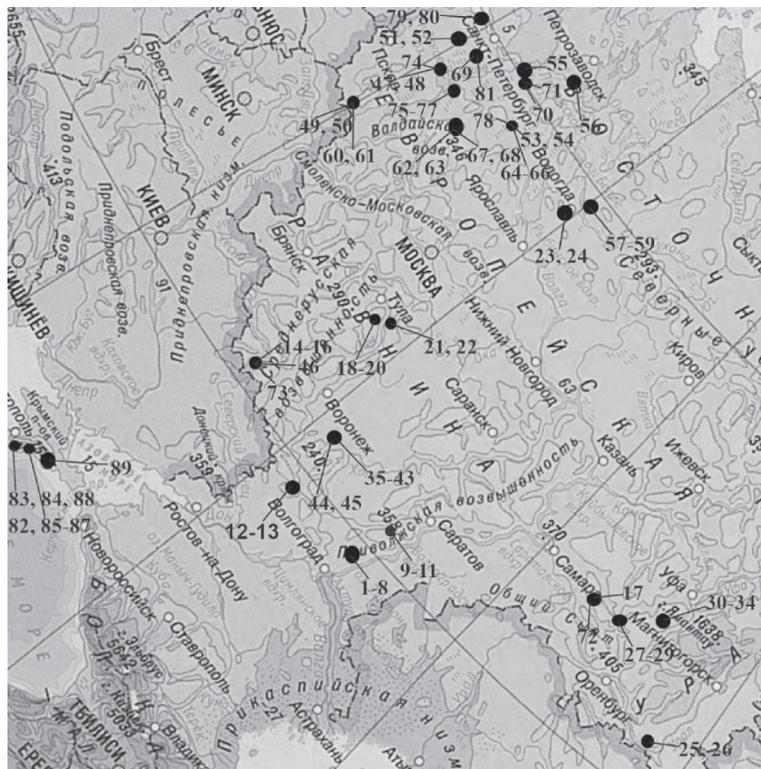
Европейской территории России (ЕТР) является одним из основных факторов почвообразования, от которого зависят минералогический, химический и гранулометрический составы почв, степень дренированности, наличие геохимических барьеров, а также это фактор, определяющий концентрацию U и Th и их дочерних РН [2, 9, 10].

Целенаправленных исследований содержания ЕРН в разных типах ПП мало. Они касаются либо почв в отдельных регионах, либо геохимии ЕРН в почвах [4, 11–21].

Целью настоящей работы является изучение содержания естественных радионуклидов  $^{226}\text{Ra}$ ,  $^{232}\text{Th}$  и  $^{40}\text{K}$  в основных литологических типах почвообразующих пород Европейской территории России.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

В качестве объектов исследования были отобраны 89 образцов основных типов ПП на территории Волгоградской, Ростовской, Оренбургской, Воронежской, Белгородской, Курской, Тульской, Новгородской, Псковской, Ленинградской



**Рис. 1.** Карта-схема расположения точек отбора образцов исследуемых почвообразующих пород. Генетические типы ПП: 1–16 – лессы и лессовидные отложения; 17–24 – покровные отложения; 25–46 – красно-бурые глины; 47–59 – моренные отложения; 60–66 – озерно-ледниковые отложения; 67–71 – водно-ледниковые отложения; 72–78 – аллювиальные отложения; 79–87 – элюво-делювий карбонатных отложений; 88, 89 – глинистые сланцы. Географическое расположение мест отбора образцов: 1–11 – Волгоградская обл.; 12–13 – Ростовская обл.; 14–16, 46, 73 – Белгородская обл.; 17, 25–29, 72 – Оренбургская обл.; 18–22 – Тульская обл.; 23, 24, 57–59 – Вологодская обл.; 30–34 – Республика Башкортостан; 35–45 – Воронежская обл.; 47, 48, 62, 63, 67, 68, 74–77 – Новгородская обл.; 49, 50, 60, 61 – Псковская обл.; 51–56, 64–66, 69–71, 78–81 – Ленинградская обл.; 82–89 – Республика Крым.

**Fig. 1.** Schematic map of the location of sampling points of the studied soil-forming rocks. Genetic types of Sfr: 1–16 – loess and loessial sediments; 17–24 – mantle rocks; 25–46 – red-brown clays; 47–59 – morainic sediments; 60–66 – lake-glacial sediments; 67–71 – fluvioglacial sediments; 72–78 – alluvial sediments; 79–87 – eluvo-diluvium of carbonate sediments; 88, 89 – argillaceous shale. Geographic location of sampling sites: 1–11 – Volgograd region (reg.); 12–13 – Rostov reg.; 14–16, 46, 73 – Belgorod reg.; 17, 25–29, 72 – Orenburg reg.; 18–22 – Tula reg.; 23, 24, 57–59 – Vologda reg.; 30–34 – Republic of Bashkortostan; 35–45 – Voronezh reg.; 47, 48, 62, 63, 67, 68, 74–77 – Novgorod reg.; 49, 50, 60, 61 – Pskov reg.; 51–56, 64–66, 69–71, 78–81 – Leningrad reg.; 82–89 – Republic of Crimea.

и Вологодской областей (обл.), а также республик (респ.) Башкортостан и Крым (рис. 1) [1, 22–24].

Исследуемые ПП представлены восемью литологическими типами, которые для удобства описания и обработки данных были объединены в зависимости от генезиса в четыре группы.

В первую группу вошли породы так называемого “проблематичного генезиса”, механизм формирования которых до конца не ясен. В ней выделены две подгруппы. Первая подгруппа – лессы, лессовидные (далее – лессовидные или лессовые) и покровные отложения (номер 1–24 на рис. 1). Вторая подгруппа – это желто- и красно-бурые глины (25–46) (далее – красно-бурые глины), образовавшиеся в процессе морского или континентального осадконакопления [1, 22, 23, 25].

Общепринятой теории формирования ПП первой подгруппы нет. Для лессовых отложений в основном выделяются две концепции: седиментационная (эоловый перенос и отложение мелкозема, главным образом, криоэлювиального происхождения) и гипергенная (облессовывание мелкозема) [1, 23, 24]. Механизм гипергенного облессовывания связывают либо с педогенезом, либо с физико-химическими и физическими (непочвенными) процессами, в том числе криогенными. К покровным относятся отложения, залегающие на поверхности морен (иногда флювиогляциальных и древнеаллювиальных наносах).

Типичной фракцией гранулометрического состава первой подгруппы является крупная пыль (частицы 0.01–0.05 мм) в количестве 30–55% для лессовых и до 35% – для покровных отложений.

Причем в покровных отложениях появляются песчаные фракции (более 0.25 мм) в количестве до 20%. Суммарное количество пылеватых и глинистых фракций в покровных отложениях составляет не менее 75–77%, а ила – от 10 до 35% [1, 23, 24].

В пылеватых фракциях лессовидных отложений содержатся кварц, калиевые полевые шпаты, карбонаты кальция и магния, а в илистой – гидрослюда, смешанослойные слюда-сметкитовые образования и хлориты. Содержание тяжелых минералов достигает 10% (циркон, ильменит, гранат и др.). Покровные отложения близки по составу к лессовым, но в отличие от них практически не содержат карбонатов и легкорастворимых солей, а тяжелых минералов, представленных гидроксидами железа, всего 1–2% [1].

В подгруппу красно-бурых глин вошли отложения различного генезиса – от переотложенного глинистого материала, образующегося при разрушении различных осадочных пород, делювиальных и остаточных глин, до сыртовых и каолиновых глин [1, 23, 24].

Вторая группа ПП представлена породами ледникового генезиса: морены (собственно ледниковые), озерно-ледниковые (звонцовые и ленточные глины) и водно-ледниковые отложения (47–71). Формирование этих ПП связано с Валдайским оледенением [1, 23, 24]. Морены залегают на коренных породах или более древних отложениях и представляют собой несортированные разнозернистые скопления обломочного материала горных пород, перенесенного ледниками часто на значительные расстояния от места формирования, и оставленные на месте таяния.

Моренам свойственно непостоянство минерало-петрографического и гранулометрического составов. Морены Валдайского возраста всегда опесчанены, со значительным количеством частиц почвенного скелета (более 1 мм) и невысоким содержанием фракции крупной пыли (0.05–0.01 мм). В пределах Северо-Западного федерального округа России они характеризуются преимущественно гидрослюдисто-каолиновым составом глинистого материала. Широко распространена карбонатная морена, связанная с выходом известняков Ордовика и Девона. Минеральный состав валунов, гальки и гравия представлен обломками пород; песчано-алевролитовая фракция состоит в основном из кварца, полевого шпата и слюды. Среди минералов тяжелой фракции (до 10%) преобладают рудные (40% от веса фракции) с примесью амфибол (роговая обманка), эпидота, граната и циркона [1, 24].

Озерно-ледниковые отложения, обычно залегающие на морене, образуются внутри ледника (во внутрiledниковых озерах с ледяными берегами) и внеледниковой области (возникают, когда сток талых вод затруднен) [1, 24]. Они имеют бо-

лее однородный тяжелый гранулометрический состав. Глинистые минералы представлены в основном гидрослюдами с примесью каолинита и монтмориллонита [1, 23].

Водно-ледниковые отложения формируются в результате деятельности ледниковых вод и откладываются во всех зонах ледника [1, 24]. Их гранулометрический состав варьирует от песчано-гравийного до суглинистого. В минеральном составе, как правило, преобладают обломки Балтийского кристаллического щита с большей или меньшей примесью местных пород, захваченных ледником [1].

Третья группа представлена породами водного (аллювиального) генезиса, формирующимися текучими водами (реки и ручьи) – древние и современные аллювиальные отложения (72–78). Материал этот хорошо перебит, окатан, сортирован и имеет слоистое сложение [1, 23, 24]. Гранулометрический состав может быть как валунными и галечниковыми, так и глинистыми. Для древнеаллювиальных отложений характерно наличие грубого материала, приуроченного к районам древних прирусловых валов, и тонкого песка с прослойками суглинка на равнинных и пониженных участках пойм. Минеральный состав аллювия зависит от состава пород, давших ему начало, условий их разрушения и переноса, но, главным образом, это кварц с примесью полевых шпатов, глауконита, слюды, хлорита, кальцита, магнетита и др. [1].

Четвертая группа – элюво-делювий коренных карбонатных отложений и глинистых сланцев [26]. Группа представлена образцами из двух регионов России. В Ленинградской обл. отбирались элюво-делювий ордовикских известняков (Ломоносовский и Гатчинский р-ны) и слоистый известковый ключевой туф (Ломоносовский р-н) (79–81). На территории Крыма (Южный берег) в его горной части – это элюво-делювий средне- и верхнеюрских известняков (82–87) и глинистые сланцы (88, 89) [25, 27].

Эта группа пород отличается от ранее рассмотренных ПП не только своим происхождением, но и повышенным содержанием карбонатов в минеральном составе. Элюво-делювий – продукт выветривания геологических отложений, формирующихся либо на месте их первоначального образования (элювий), либо перенесенный тальми водами с верхних частей склона (делювий). Главный компонент известняков – кальцит ( $\text{CaCO}_3$ ) с примесью доломита, оксидов кремния, сульфидов и гидроксидов железа, тяжелых металлов, песчаного и глинистого материалов. Известковые туфы, встречающиеся на небольших площадях, формируются из углекислых вод минеральных источников. Глинистые сланцы образуются в результате преобразования под давлением глин различных групп: гидрослюда с примесью кварца, полевого шпата и слюды, а также местами с серицитом и хлоритом [1].

Образцы ПП отбирались из горизонтов “С” (ПП) из почвенных монолитов, входящих в состав Биоресурсной коллекции почвенных монолитов и образцов Центрального музея почвоведения им. В.В. Докучаева. Пробоподготовку и последующий анализ образцов проводили однотипно и по общепринятым методикам, описанным в руководстве “Теория и практика химического анализа почв” под редакцией Л.А. Воробьевой [28].

В образцах анализировали гранулометрический состав и рН водной суспензии, позволяющие определить литологический тип ПП. В образцах элюво-делювия карбонатных отложений гранулометрический состав определялся в мелкозем (менее 1 мм).

Удельную активность ( $R_A$ , Бк/кг) ЕРН ( $^{226}\text{Ra}$ ,  $^{232}\text{Th}$ ,  $^{40}\text{K}$ ) определяли в воздушно-сухой навеске ПП методом гамма-спектрометрии во Всероссийском научно-исследовательском институте радиологии и агроэкологии. Измерения проводили на спектрометре ГАММА-1П на два измерительных тракта с полупроводниковыми детекторами из особо чистого германия производства фирмы EG&G ORTEC (США) [37].

Для статистического анализа полученных данных были рассчитаны: среднее арифметическое ( $M$ ), стандартное отклонение ( $\sigma$ ), коэффициент вариаций ( $V\sigma$ ) и коэффициент корреляции Пирсона ( $r$ ) [30, 31]. Исследуемые выборки удовлетворяли нормальному распределению, рассчитанному с помощью критерия Шапиро–Уилка. Корреляционные взаимосвязи считались существенными (уровень значимости  $\alpha = 0.05$ ) для выборки в: 89 образцов (генеральная совокупность данных) при  $r \geq 0.21$  (коэффициент Стьюдента фактический,  $t_\gamma = 2.00$ ); 46 образцов (первая группа ПП) –  $r \geq 0.29$  (коэффициент Стьюдента фактический,  $t_\gamma = 2.02$ ); 23 образца (вторая группа ПП) –  $r \geq 0.40$  (коэффициент Стьюдента фактический,  $t_\gamma = 2.07$ ) [30, 31].  $V\sigma$  рассчитывался по следующим выборкам: а) группа в целом; б) каждый тип ПП в группе в отдельности; в) по значениям рН ( $\text{pH} \leq 6.9$ ;  $7.0\text{--}8.1$  и  $\geq 8.2$ ); г) по содержанию физической глины ( $\leq 60\%$  и  $> 61\%$ , т.е. отдельно для образцов суглинистого и глинистого гранулометрического состава). На основании литературных данных и статистической обработки полученного материала  $V\sigma$ , превышающий 30%, был принят как показатель высокой неоднородности  $R_A$  ЕРН [30, 32].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### *Содержание ЕРН в породах “проблематичного генезиса” (первая группа ПП)*

Исследуемые образцы пород характеризуются тяжелым гранулометрическим составом с высоким содержанием фракций 0.05–0.01 и 0.005–

0.001 мм и низким песка (табл. 1). Содержание фракции ила варьирует от 17 до 55%. Образцы характеризуются широким диапазоном рН (от кислого – 4.5 до щелочного – 9.3), обусловленным содержанием карбонатов и легкорастворимых солей.

$R_A$   $^{226}\text{Ra}$  во всех образцах ПП первой группы находится в диапазоне 7.5–51.7 Бк/кг ( $M = 21.5$  Бк/кг,  $\sigma = 9.0$  Бк/кг) (табл. 1). По абсолютным значениям наиболее высокая  $R_A$   $^{226}\text{Ra}$  отмечается в образцах Тульской обл. (красно-бурые глины), а наиболее низкая – Оренбургской и Воронежской областей и Республики Башкортостан ( $R_A$  менее 11.1 Бк/кг).  $R_A$   $^{232}\text{Th}$  во всех образцах варьирует от 24.3 до 63.9 Бк/кг ( $M = 38.8 \pm 9.7$  Бк/кг) и диапазон определяется его содержанием в красно-бурых глинах. Разница между лессовидными и покровными отложениями (их минимальными и максимальными значениями) всего 0.3 Бк/кг. Наибольшие значения  $R_A$   $^{232}\text{Th}$  отмечаются в образцах Республики Башкортостан, а наименьшие – в Воронежской обл. Содержание  $^{40}\text{K}$  варьирует в широком диапазоне 275–780 Бк/кг ( $M = 526 \pm 128$  Бк/кг) и практически, как и в случае с  $^{232}\text{Th}$ , определяется содержанием радионуклида в красно-бурых глинах. Наиболее высокая  $R_A$   $^{40}\text{K}$  отмечается в образцах из Республики Башкортостан, Воронежской обл., а наиболее низкая – Оренбургской и Воронежской областей.

Наиболее широкие диапазоны  $R_A$  по всем ЕРН, но при этом с наименьшими средними значениями, отмечаются в красно-бурых глинах. Исключением являются покровные отложения, диапазон  $^{226}\text{Ra}$  в которых шире, чем в красно-бурых глинах. Значения средней  $R_A$  всех ЕРН в группе возрастает в последовательности: красно-бурые глины – лессовидные отложения – покровные отложения.

Расчет  $V\sigma$  выявил наибольшую пространственную неоднородность в образцах красно-бурых глин (по  $^{226}\text{Ra}$  и  $^{232}\text{Th}$ ), а наименьшую – в лессовидных отложениях.  $V\sigma$  по  $^{40}\text{K}$  не превысил 30%-ного порога. Расчет  $V\sigma$  по группам рН (реакция среды кислая, нейтральная или щелочная) показал, что неоднородность значений активности  $^{232}\text{Th}$  и  $^{40}\text{K}$  возрастает с уменьшением кислотности почв, а у  $^{226}\text{Ra}$  – наименьший разброс значений приходится на нейтральную реакцию среды. В выборке по содержанию физической глины неоднородность отмечается только для  $^{226}\text{Ra}$ .

### *Содержание ЕРН в породах ледникового генезиса (вторая группа ПП)*

Преобладающими фракциями в образцах морен и водно-ледниковых отложений являются мелкий песок (0.25–0.05 мм) и крупная пыль (0.05–0.01 мм), а в озерно-ледниковых отложениях

**Таблица 1.** Результаты статистической обработки данных удельной активности ЕРН, рН и фракций гранулометрического состава в группах ПП  
**Table 1.** Results of statistical processing of the data on the specific activity of NRR, pH and particle size distribution fractions in the soil-forming rocks (SFR) groups

Литологические типы ПП	Радионуклид	Число образцов (n)	Среднее значение (M) и стандартное отклонение (σ)	Диапазон удельной активности (R <sub>A</sub> )	Коэффициент вариаций (Vσ)	Диапазон значений рН водн.	Диапазон содержания фракций	
							Бк/кг	%
Лессовидные отложения	<sup>226</sup> Ra	16	21.8 ± 6.2	14.5–30.7	28.5	5.7–8.8	20–42	49–88
	<sup>232</sup> Th		38.7 ± 7.1	29.7–49.9	18.3			
	<sup>40</sup> K		575 ± 131	416–780	22.8			
Покровные отложения	<sup>226</sup> Ra	8	27.9 ± 13.1	15.0–51.7	46.8	4.5–8.0	26–39	48–77
	<sup>232</sup> Th		41.2 ± 7.3	30.0–50.2	17.7			
	<sup>40</sup> K		576 ± 86	431–656	14.9			
Красно-бурые глины	<sup>226</sup> Ra	22	19.0 ± 7.9	7.5–34.4	41.5	5.3–9.3	17–55	46–90
	<sup>232</sup> Th		37.9 ± 11.9	25.5–63.9	31.4			
	<sup>40</sup> K		472 ± 118	275–740	25.1			
Моренные отложения	<sup>226</sup> Ra	13	21.5 ± 7.7	13.4–36.0	35.7	5.5–8.3	7–34	27.5–73
	<sup>232</sup> Th		33.7 ± 9.4	18.9–49.0	27.8			
	<sup>40</sup> K		711 ± 148	417–890	20.8			
Озерно-ледниковые отложения	<sup>226</sup> Ra	7	30.2 ± 10.7	22.0–50.0	35.3	5.1–7.9	16–57	61–94
	<sup>232</sup> Th		51.2 ± 8.8	37.0–60.8	17.1			
	<sup>40</sup> K		857 ± 219	470–1043	25.5			
Водно-ледниковые отложения	<sup>226</sup> Ra	5	13.1 ± 6.7	5.1–22.4	51.6	5.3–6.6	1–15	6.5–24
	<sup>232</sup> Th		21.8 ± 12.9	11.3–41.0	59.1			
	<sup>40</sup> K		507 ± 152	384–770	30.1			
Аллювиальные отложения	<sup>226</sup> Ra	7	14.5 ± 8.8	4.3–26.9	61.0	4.8–7.8	1–6	3.5–20
	<sup>232</sup> Th		16.7 ± 8.1	4.9–31.6	48.3			
	<sup>40</sup> K		400 ± 162	88.1–570	40.4			
Элюво-делювий Орловских известняков и ключевой туф	<sup>226</sup> Ra	3	52.5 ± 43.2	14.0–91.0	82.3	6.2–7.5	8–21	24–43
	<sup>232</sup> Th		30.4 ± 16.3	20.0–40.8	53.6			
	<sup>40</sup> K		649 ± 379	320–978	58.4			
Элюво-делювий Верхнеюрских известняков и глинистые сланцы	<sup>226</sup> Ra	8	27.4 ± 7.8	13.2–35.0	28.4	5.1–8.1	6–33	29–70
	<sup>232</sup> Th		46.3 ± 10.2	24.7–56.9	22.1			
	<sup>40</sup> K		651 ± 279	27.0–964	42.9			

ях, представленных ленточными и звонцовыми глинами, — мелкая пыль и ил (табл. 1). Содержание фракции ила изменяется в широком диапазоне от 1 до 57%. Реакция среды варьирует от кислой (4.9) до щелочной (8.3). Наиболее высокие значения рН отмечены в моренах и звонцовых глинах.

Диапазон  $R_A$   $^{226}\text{Ra}$  в образцах этой группы составляет 5.1–50.0 Бк/кг ( $M = 22.3 \pm 10.2$  Бк/кг) (табл. 1). Максимальное содержание  $^{226}\text{Ra}$  отмечается в озерно-ледниковых ПП Новгородской обл., а минимальное — в водно-ледниковых ПП Ленинградской обл. ( $R_A$  менее 7.0 Бк/кг). Содержание  $^{232}\text{Th}$  варьирует в широком диапазоне: от 11.6 до 60.8 Бк/кг ( $M = 36.3 \pm 14.4$  Бк/кг). Наиболее высокая  $R_A$   $^{232}\text{Th}$  отмечается в озерно-ледниковых отложениях Псковской и Ленинградской областей, а наиболее низкая — в водно-ледниковых отложениях Новгородской и Ленинградской областей ( $R_A$  менее 13.5 Бк/кг).  $R_A$   $^{40}\text{K}$  варьирует в пределах 384–1043 Бк/кг ( $M = 711 \pm 208$  Бк/кг). Наиболее высокая и низкая удельная активность  $^{40}\text{K}$  отмечается в тех же регионах, что и для  $^{232}\text{Th}$ .

Наиболее высоким средним значением  $R_A$  исследуемых ЕРН и наиболее широким диапазоном характеризуются озерно-ледниковые отложения. Возрастание средней  $R_A$  и увеличение диапазона происходит в порядке: водно-ледниковые отложения — морены — озерно-ледниковые отложения. Исключением является диапазон содержания  $^{232}\text{Th}$ , где озерно-ледниковые отложения имеют наиболее узкий разброс данных, а морены и водно-ледниковые отложения наоборот — более широкие.

Озерно-ледниковые отложения, в целом, выделяются в данной группе как по своим физико-химическим характеристикам, так и значениям  $R_A$  ЕРН.

Наибольшая пространственная неоднородность отмечается в водно-ледниковых отложениях (за исключением  $^{40}\text{K}$ ) (табл. 1). Для морен и озерно-ледниковых отложений неоднородность в содержании ЕРН отмечена только для  $^{226}\text{Ra}$ , а для  $^{232}\text{Th}$  и  $^{40}\text{K}$   $V\sigma \leq 30\%$ . Для образцов с кислой и нейтральной реакцией среды ( $\text{pH}_{\text{водн.}} < 6.9$ ) неоднородность отмечена для  $^{226}\text{Ra}$  и  $^{232}\text{Th}$ , а щелочной ( $\text{pH}_{\text{водн.}} > 7.0$ ) — только для  $^{226}\text{Ra}$ . Особенности гранулометрического состава повлияли на разброс значений  $R_A$  ЕРН. В песчаных, супесчаных и суглинистых образцах неоднородность проявилась для  $^{226}\text{Ra}$  и  $^{232}\text{Th}$ , тогда как для образцов с содержанием физической глины больше 61% неоднородность в  $R_A$  ЕРН не выявлена.

#### *Содержание ЕРН в породах аллювиального генезиса (третья группа ПП)*

Исследуемые образцы характеризуются легким гранулометрическим составом (от песков до

легких суглинков). Разрезы, из которых они отбирались, были заложены вблизи поймы рек на повышенном элементе рельефа. Количество частиц более 0.01 мм достигает 93% (табл. 1). Содержание фракции ила во всех образцах не превышает 6%. Реакция среды варьирует от кислой до слабощелочной.

Диапазон содержания  $^{226}\text{Ra}$  в аллювиальных отложениях варьирует от 4.3 до 26.9 Бк/кг ( $M = 14.5 \pm 8.8$  Бк/кг) (табл. 1). Наиболее высокие значения  $R_A$   $^{226}\text{Ra}$  отмечены только в двух образцах Новгородской обл. (26.8 и 26.9 Бк/кг), тогда как в остальных образцах активность меньше 14 Бк/кг. Содержание  $^{232}\text{Th}$  изменяется в диапазоне 4.9–31.6 Бк/кг ( $M = 16.7 \pm 8.1$  Бк/кг). Максимальная активность радионуклида отмечается в Новгородской обл., а минимальная — в Белгородской.  $R_A$   $^{40}\text{K}$  варьирует от 88 до 570 Бк/кг ( $M = 400 \pm 162$  Бк/кг). Высокие значения  $R_A$  ( $>350$  Бк/кг) отмечаются в образцах всех регионов, кроме Белгородской обл. (88.1 Бк/кг).

Аллювиальные отложения, в отличие от других исследуемых типов ПП, характеризуются наиболее низкими средними значениями и узкими диапазонами  $R_A$  ЕРН, а также, в целом, самыми низкими минимальными значениями содержания  $^{226}\text{Ra}$  (4.3 Бк/кг),  $^{232}\text{Th}$  (4.9 Бк/кг) и  $^{40}\text{K}$  (88 Бк/кг), отмеченными в древнеаллювиальных отложениях Белгородской обл. (73: заповедник “Белогорье” участок “Лес на Ворскле”, р. Ворскла).

Расчет коэффициента вариаций по всем рассматриваемым выборкам выявил (очень) высокую неоднородность содержания ЕРН (табл. 1). Скорее всего, это связано с минералогическим составом пород водосборной территории. Исключение отмечено только для  $R_A$   $^{40}\text{K}$  в образцах с нейтральной реакцией среды. Из-за малого количества образцов (семь единиц) аллювиальных отложений говорить о значимости данных статистической обработки нецелесообразно.

#### *Содержание ЕРН в элюво-делювии коренных карбонатных отложений (четвертая группа ПП)*

Гранулометрический состав мелкозема (частицы менее 1 мм) этого типа ПП представлен суглинками и глинами. Реакция среды в образцах нейтральная и щелочная.

$R_A$   $^{226}\text{Ra}$  во всех образцах элюво-делювия карбонатных отложений варьирует в наиболее широком диапазоне по сравнению со всеми исследуемыми группами ПП: 13.2–91 Бк/кг ( $M = 32.4 \pm 21.8$  Бк/кг) и определяется диапазоном образцов из Ленинградской обл. (табл. 1).  $R_A$   $^{232}\text{Th}$  изменяется в пределах от 20 до 56.9 Бк/кг ( $M = 43.1 \pm 13.1$  Бк/кг), с наименьшим значением в образцах элюво-делювия известняка Ленинградской обл. и

наибольшим — Крыма. Активность  $^{40}\text{K}$  варьирует в наиболее широком диапазоне (27–978 Бк/кг,  $M = 650 \pm 294$  Бк/кг) по сравнению со всеми исследуемыми группами ПП и, в целом, определяется содержанием радионуклида в образцах Крыма (27–964 Бк/кг).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование связи  $R_A$  ЕРН с различными литологическими типами ПП является многофакторной задачей вследствие сложной геологической истории преобразования горных пород на территории России — носителей ЕРН.

ЕРН относятся к элементам первичного происхождения, существующим на Земле с момента ее возникновения [10, 34, 35]. Удельная активность земной коры связана с наличием в ней таких радионуклидов, как  $^{40}\text{K}$  ( $6.62 \times 10^5$  Бк/т),  $^{232}\text{Th}$  ( $4.9 \times 10^4$  Бк/т) и  $^{238}\text{U}$  ( $3.35 \times 10^4$  Бк/т) [36]. Наибольшее содержание U, Th и K характерно для магматических изверженных пород и уменьшается в последовательности: кислые — средние — основные — ультраосновные. Так, коренные кристаллические породы (граниты) характеризуются наиболее высокой активностью ЕРН. По данным [11], их среднее содержание составляет:  $^{40}\text{K}$  — 1000 Бк/кг;  $^{238}\text{U}$  — 60 Бк/кг;  $^{232}\text{Th}$  — 80 Бк/кг. В исследованиях S. Pavlidou и др. [36] показаны не только средние значения  $R_A$  (довольно близкие к [11]), но и диапазоны:  $^{40}\text{K}$  —  $1104 \pm 407$  Бк/кг (диапазон 49–1592 Бк/кг);  $^{238}\text{U}$  —  $61 \pm 56$  Бк/кг (0) 19–174 Бк/кг);  $^{232}\text{Th}$  —  $81 \pm 79$  Бк/кг (0) 30–254 Бк/кг);  $^{226}\text{Ra}$  —  $64 \pm 53$  Бк/кг (2–170 Бк/кг). Повышенное содержание ЕРН отмечается в некоторых осадочных породах — глинистых сланцах и глинах, а минимальное — в песках, песчаниках, гипсе и карбонатных породах (известняки и доломиты). Активность ЕРН отражает региональные особенности строения и состава горных пород [12, 14–16, 18, 24, 34]. Например, по данным А.С. Абдулаевой [18],  $R_A$   $^{238}\text{U}$  и  $^{232}\text{Th}$  в породах Дагестана составляет: в глинах — 31.5–49.4 и 45.0–60.3 Бк/кг; карбонатах — 27.0–40.3 и 11.6–21.0 Бк/кг; известняках — 31.4–44.2 и 30.4–44.0 Бк/кг; и сланцах — 36.7–43.7 и 51.0–64.0 Бк/кг соответственно.

Первичные носители ЕРН магматические, метаморфические и плотные осадочные породы под воздействием процессов выветривания и почвообразования разрушались. В результате выветривания горных пород в течение нескольких миллиардов лет образовались коры выветривания (КВ), представляющие собой систему слоев рыхлых горных пород, начиная от исходных коренных пород до дневной поверхности. Под воздействием разнообразных геологических процессов КВ разрушались, переносились и переоткладыва-

лись. По характеру соотношения выноса химических элементов и их накопления в пространстве Б.Б. Полюнов различал генетически взаимосвязанные элювиальные и аккумулятивные КВ. Аккумулятивные КВ (или переотложенная КВ по И.И. Гинзбургу, 1963), подразделяются на хлоридно-сульфатную, карбонатную и сиаллитную. Они формируются за счет размыва, смыва и переотложения КВ на расстоянии от области выноса и приурочены к склонам водоразделов, долинам и водным бассейнам. Дальность переноса зависит от растворимости мигрирующих веществ [1].

А.И. Перельман (1977) предложил группировку КВ по окислительно-восстановительной и кислотнo-щелочной обстановке. Так, в районах исследования во влажном климате при сквозном промачивании формируются кислые КВ, а при слабой дренированности — коры с глеевой обстановкой. К районам с сухим климатом (степи и полупустыни) приурочен кальциевый класс окислительного ряда КВ (карбонатная и бескарбонатная). Вследствие зависимости процессов выветривания от физико-географических условий и состава коренных пород КВ меняются с севера на юг, подчиняясь закону зональности. Кроме зональных типов КВ в районах умеренного и холодного климата может встречаться элювий карбонатных пород молодых кор, а в аридных — глубоко переработанные древние каолиновые коры и КВ, формирующиеся в условиях засоления-рассоления (карбонатные, гипсовые, хлоридно-сульфатные, солонцовые в сочетании с глеевыми) [1, 37]. В горных частях тектонически активных областей развитых КВ либо нет вообще, либо они незрелые (слаборазвитые), хотя химическое выветривание здесь идет [38].

Исследуемые ПП ледникового генезиса сформировались на кислой (преимущественно гидрослюдистой), а также кислой и нейтральной глеевой КВ. ПП “проблематичного генезиса”, а также элюво-делювий карбонатных отложений сформировались на кальциевой КВ. Также стоит отметить, что красно-бурые глины из Оренбургской обл. и Республики Башкирия отчасти сформировались на КВ засоления-рассоления. Основной для аллювиальных отложений, благодаря их географическому разнообразию, послужили все выше перечисленные КВ [37].

Последним “аккордом” в формировании современных КВ, вещественного состава ПП и содержания в них ЕРН на большей части ЕТР стало последнее (Валдайское) материковое оледенение [1, 24, 25]. С ним связаны процессы дробления и эскарации (ледниковое выпаживание) коренных пород, перемешивание верхних слоев КВ и перемещения обломочного и мелкодисперсного материала на значительные расстояния. Преобладание тех или иных процессов, а также их сочетание

**Таблица 2.** Существенные корреляционные взаимосвязи (*r*) между содержанием ЕРН в некоторых типах ПП с гранулометрическим составом и рН  
**Table 2.** Significant correlations (*r*) between the NRN content in some types of SfR with particle size distribution and pH

Радионуклид	Число образцов ( <i>n</i> ), ед.	рН	Фракции гранулометрического состава, мм						
			1.00–0.25	0.25–0.05	0.05–0.01	0.01–0.005	0.005–0.001	<0.001	<0.01
Все почвообразующие породы									
<sup>226</sup> Ra	89*								
<sup>232</sup> Th			–0.47	–0.55	0.21	0.46	0.48	0.50	0.60
<sup>40</sup> K						0.24	0.25		
Породы “проблематичного генезиса”									
<sup>226</sup> Ra	46*	–0.32			0.49		–0.37		
<sup>232</sup> Th									
<sup>40</sup> K		–0.37	–0.37	–0.32	0.39				
Породы ледникового генезиса									
<sup>226</sup> Ra	23*							0.56	0.41
<sup>232</sup> Th			–0.49	–0.61		0.56	0.63	0.64	0.77
<sup>40</sup> K			–0.48	–0.46		0.40	0.59	0.51	0.63

\* Коэффициент Стьюдента (фактический) при выборке 89 образцов составляет 2.00 (существенные значения  $r \geq 0.21$ ); 46 образцов – 2.02 ( $r \geq 0.29$ ); 23 образцов – 2.07 ( $r \geq 0.40$ ).  
 Пустые ячейки означают отсутствие существенных взаимосвязей.

в осадкообразовании и особенности факторов, их определяющих, обусловили литологический тип ПП и их разнообразие. Таким образом, содержание ЕРН в ПП разных литологических типов связано с генезисом КВ.

ЕРН в ПП в результате сложных комбинаций разнородных процессов многоэтапного преобразования вещественного состава КВ оказываются в разных формах: прочно связанные в составе кристаллической решетки минералов, в форме оксидов элементов, в комплексе с полуторными оксидами (R<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) и гумусовыми кислотами, в обменном состоянии с глинистыми минералами. На содержание ЕРН в разных типах ПП оказывают влияние биохимические условия (кислотно-основные и окислительно-восстановительные) формирования современных КВ [2].

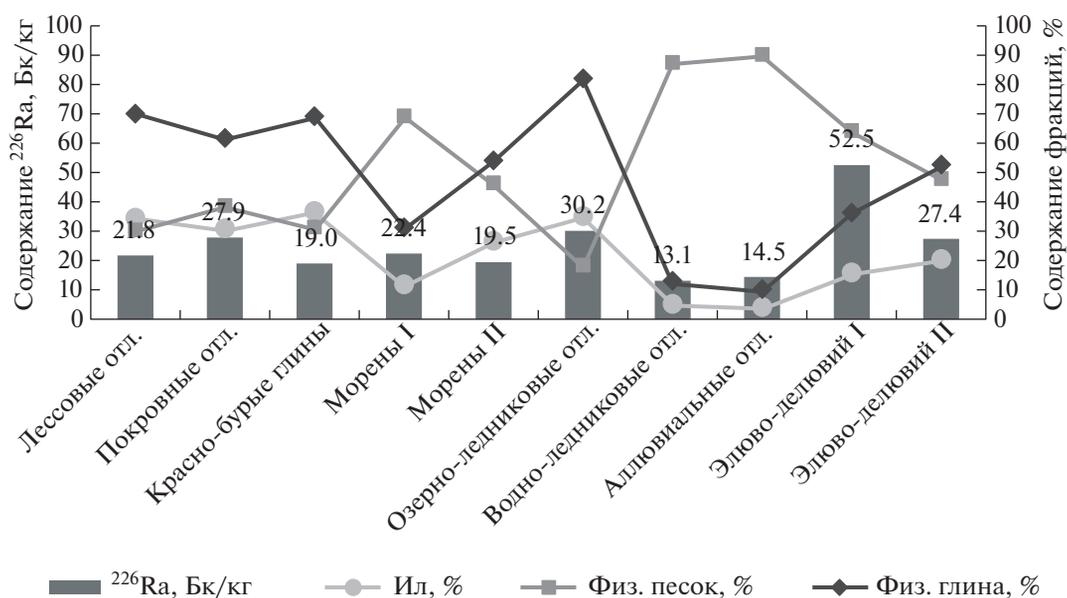
Как показано выше, в гранулометрическом составе и реакции среды проявляются существенные отличия типов ПП. Содержание гумусовых веществ, влияющих на активность ЕРН путем образования органо-минеральных комплексов, в ПП низкое. Поэтому их влияние незначительно [9, 32, 40].

Реакция среды в ПП разных типов варьирует в широком диапазоне. Она связана с наследованием карбонатов коренных пород и с геохимическими процессами, происходящими в КВ и обуславливающими миграционные способности ЕРН. Расчеты корреляционных связей между содер-

жением ЕРН и рН неоднозначны. Существенная обратная взаимосвязь выявлена только для <sup>226</sup>Ra (–0.32) и <sup>40</sup>K (–0.37) второй группы ПП (табл. 2). Для <sup>232</sup>Th существенной взаимосвязи отдельно по группам ПП не выявлено. Возможно, это связано с тем, что все исследуемые образцы имеют рН выше 3.5 [10].

Диагностическим признаком типов ПП является соотношение различных фракций гранулометрического состава. Связь между содержанием ЕРН и фракциями гранулометрического состава проявляется в двух аспектах: во-первых, с гранулометрическим составом связан минералогический состав – потенциальный носитель ЕРН; во-вторых, с гранулометрическим составом связана способность к сорбированию ЕРН. Крупные фракции (физический песок) представлены первичными минералами, а илстые фракции – вторичными глинистыми минералами – основным сорбентом ЕРН. Хорошей иллюстрацией связей является совмещение данных гранулометрического состава и ЕРН разных типов на одном графике (рис. 2, 3, 4).

По средней активности ЕРН в ряду рассмотренных типов ПП наиболее низкими значениями выделяются водно-ледниковые и аллювиальные отложения. В их гранулометрическом составе абсолютно преобладают фракции физического песка. Максимальной активностью ЕРН характеризуются озерно-ледниковые породы (для <sup>232</sup>Th и



**Рис. 2.** Средние значения содержания  $^{226}\text{Ra}$  и основных фракций гранулометрического состава в генетических типах ПП. \*Морена I – содержание фракции ила в образцах менее 20%; Морена II – содержание фракции ила в образцах более 20%; Элюво-делювий I – элюво-делювий коренных карбонатных отложений в образцах из Ленинградской области; Элюво-делювий II – элюво-делювий коренных карбонатных отложений из Крыма. Физ. песок – суммарное среднее содержание фракций более 0.01 мм; Физ. глина – суммарное среднее содержание фракций менее 0.01 мм.

**Fig. 2.** Average values of the  $^{226}\text{Ra}$  content and the main fractions of the particle size distribution in the genetic types of SFR. \*Moraine I – the content of the silt fraction in the samples is less 20%; Moraine II – the content of the silt fraction in the samples is more than 20%; Eluvo-diluvium I – eluvo-diluvium of carbonate sediments in samples from the Leningrad region; Eluvo-diluvium II – eluvo-diluvium of carbonate sediments in samples from the Republic of Crimea. Physical sand – the total average content of fractions >0.01 mm; Physical clay – total average content of fractions <0.01 mm.

$^{40}\text{K}$ ) и элюво-делювий I для  $^{226}\text{Ra}$ . Вторую позицию по  $^{226}\text{Ra}$  занимают озерно-ледниковые отложения, а по  $^{232}\text{Th}$  – элюво-делювий II. По содержанию  $^{40}\text{K}$  вторую позицию занимают морены I и II, а третью – элюво-делювий I и II. Характерно, что по содержанию  $^{226}\text{Ra}$  и  $^{232}\text{Th}$  морены заметно не выделяются по сравнению с породами первой группы.

Эта тенденция подтверждается данными корреляционного анализа, который показал (табл. 2): прямую существенную взаимосвязь  $R_A$   $^{226}\text{Ra}$  с содержанием фракций более 0.01 мм для ПП первой и с содержанием ила и физической глины в ПП второй группы, а также обратную взаимосвязь с фракциями менее 0.01 мм и 0.005–0.001 мм в образцах первой группы.

Между активностью ЕРН и содержанием фракций физической глины и в особенности илистой в большинстве типов ПП прослеживается отчетливо выраженная тенденция к увеличению в ПП содержания радионуклидов с ростом количества мелкодисперсной фракции. Особенно четко это проявляется для  $^{232}\text{Th}$  (рис. 3). Исключением является морена I, в которой активность всех ЕРН связана с высоким содержанием песчаной фракции, состоящей из первичных ми-

нералов. Эта взаимосвязь подтверждается данными корреляционного анализа, в особенности для второй группы ПП (табл. 2).

Несмотря на практически одинаковое содержание илистой фракции в красно-бурых и озерно-ледниковых глинах, сформированных на разных КВ, активность ЕРН у них существенно различается. То же относится и к элюво-делювию I и II. При этом элюво-делювий I сформирован на слабо развитой карбонатной КВ ордовикского времени, а элюво-делювий II – юрского времени. Данная тенденция для всех типов ПП, кроме первой группы, подтверждается данными корреляционного анализа. В образцах первой группы корреляционный анализ показал обратную взаимосвязь активности  $^{40}\text{K}$  с фракциями 1–0.25 и 0.25–0.05 мм и прямую с основной фракцией данной группы – 0.05–0.01 мм (табл. 2).

В целом при сравнении представленных выше диаграмм (рис. 2–4) можно выявить общие тенденции для ЕРН и корреляционные взаимосвязи содержания ЕРН с фракциями гранулометрического состава. На рис. 5 в качестве примера графически представлены существенные корреляционные взаимосвязи между содержанием ЕРН и фракцией физической глины (<0.01 мм) для всех

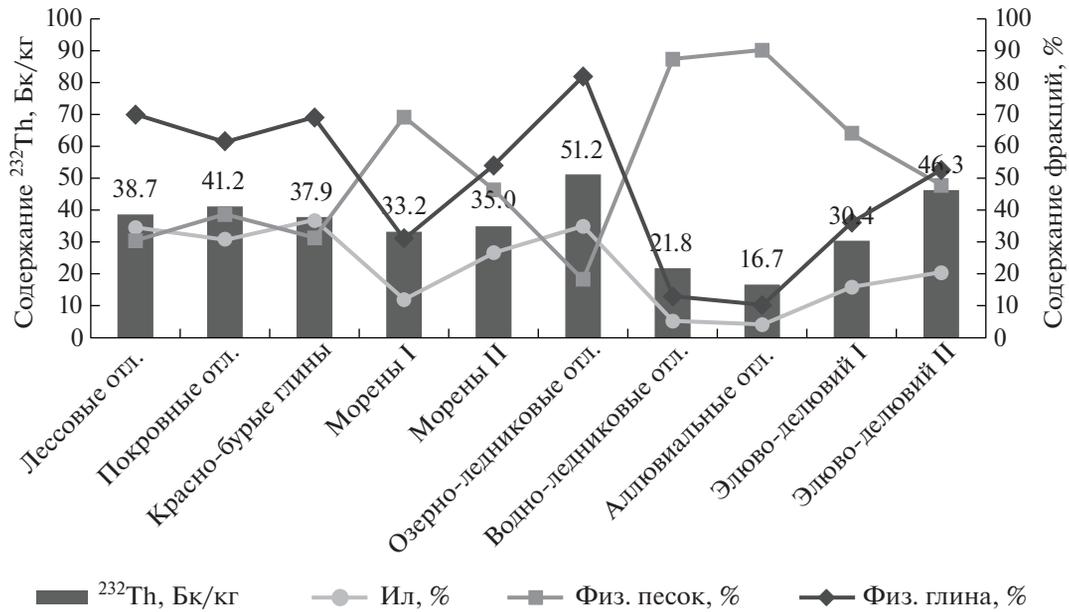


Рис. 3. Средние значения содержания <sup>232</sup>Th и основных фракций гранулометрического состава в генетических типах ПП.  
 Fig. 3. Average values of <sup>232</sup>Th content and the main fractions of the particle size distribution in the genetic types of SfR.

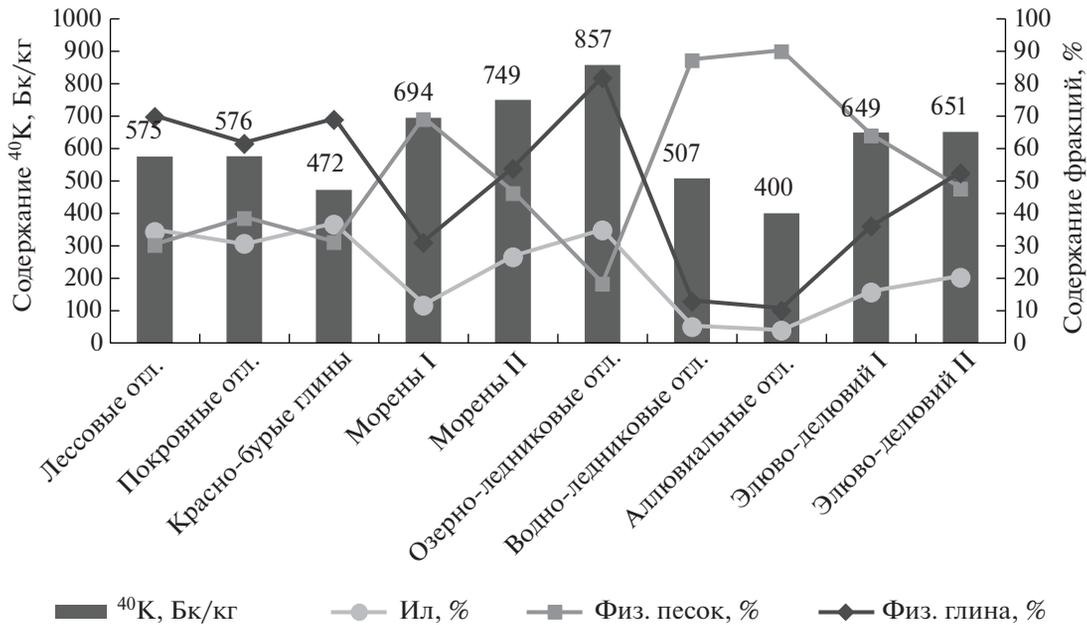
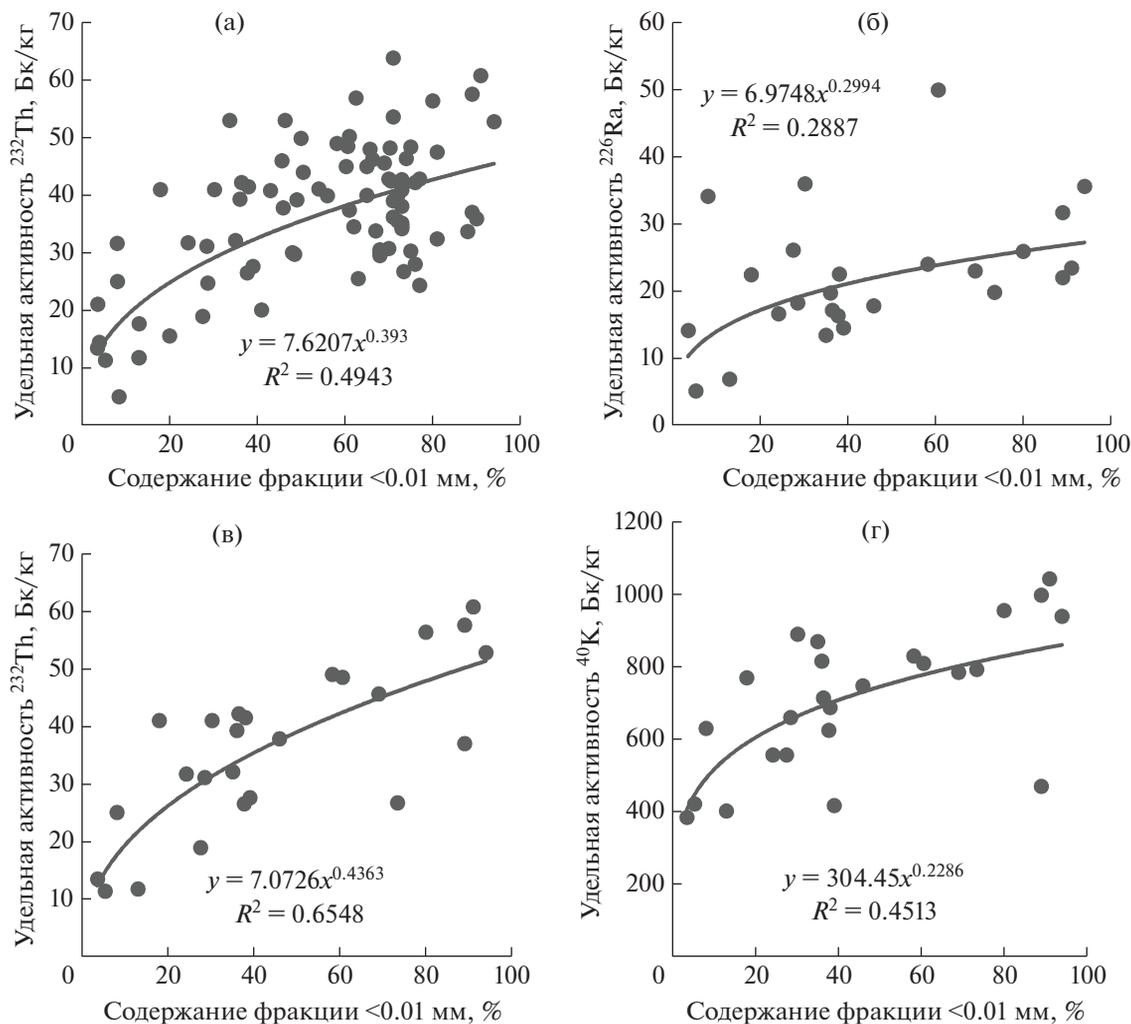


Рис. 4. Средние значения содержания <sup>40</sup>K и основных фракций гранулометрического состава в генетических типах ПП.  
 Fig. 4. Average values of <sup>40</sup>K content and the main fractions of the particle size distribution in the genetic types of SfR.

образцов и для первой и второй групп ПП в отдельности. Также даны уравнение регрессии с величиной достоверности аппроксимации ( $R^2$ ) и линия тренда. В первой группе ПП отмечалась обратная взаимосвязь содержания <sup>226</sup>Ra с содержанием мелкой пыли, а для <sup>40</sup>K с фракциями песка. Прямая взаимосвязь в этой группе отмечалась

для <sup>226</sup>Ra и <sup>40</sup>K только с лессовой фракцией (0.05–0.01 мм). Во второй группе для <sup>232</sup>Th и <sup>40</sup>K отмечена обратная взаимосвязь с фракциями песка и прямая со всеми фракциями гранулометрического состава менее 0.01 мм (включая фракцию физической глины). В четвертой группе отмечается обратная взаимосвязь <sup>232</sup>Th и <sup>40</sup>K с фракцией



**Рис. 5.** Существенные корреляционные взаимосвязи содержания ЕРН (Бк/кг) и фракции физической глины (<0.01 мм (%)). \*На диаграммах отмечены линия тренда (линейная или степенная), уравнение регрессии с величиной достоверности аппроксимации ( $R^2$ ).

- (а) – взаимосвязь (степенная) содержания удельной активности  $^{232}\text{Th}$  (Бк/кг) и фракции <0.01 мм для всех образцов почвообразующих пород;  
 (б) – взаимосвязь (степенная) содержания удельной активности  $^{226}\text{Ra}$  (Бк/кг) и фракции <0.01 мм для второй группы почвообразующих пород;  
 (в) – взаимосвязь (степенная) содержания удельной активности  $^{232}\text{Th}$  (Бк/кг) и фракции <0.01 мм для второй группы почвообразующих пород;  
 (г) – взаимосвязь (степенная) содержания удельной активности  $^{40}\text{K}$  (Бк/кг) и фракции <0.01 мм для второй группы почвообразующих пород.

**Fig. 5.** Significant correlations between the content of NRN (Bq/kg) and the fraction of physical clay (<0.01 mm (%)).

\* The diagrams show a trend line (linear or power-law), the regression equation with the value of the approximation confidence ( $R^2$ ).

- (a) – relationship (power-law) of the content of the specific activity of  $^{232}\text{Th}$  (Bq/kg) and the fraction <0.01 mm for all samples of soil-forming rocks;  
 (б) – relationship (power-law) of the content of the specific activity of  $^{226}\text{Ra}$  (Bq/kg) and the fraction <0.01 mm for the second group of soil-forming rocks;  
 (в) – relationship (power-law) of the content of the specific activity of  $^{232}\text{Th}$  (Bq/kg) and the fraction <0.01 mm for the second group of soil-forming rocks;  
 (г) – relationship (power-law) of the content of the specific activity of  $^{40}\text{K}$  (Bq/kg) and the fraction <0.01 mm for the second group of soil-forming rocks.

крупного и среднего песка (1–0.25 мм) при выборке образцов ПП только из Крыма, но эти данные из-за малой выборки (шесть образцов) не существенны.

Исследование разных литологических типов ПП показало, что по величине  $R_A$  ЕРН наиболее высокие значения по всем РН отмечены в озерно-ледниковых отложениях и группе элюво-делювия

коренных карбонатных отложений. Также высокое содержание  $^{40}\text{K}$  наблюдается в моренах и  $^{232}\text{Th}$  в покровных отложениях. Наименьшее содержание всех ЕРН отмечено в аллювиальных и водно-ледниковых отложениях.

Такое распределение ЕРН можно объяснить несколькими причинами. Одной из них является преемственность между содержанием радионуклидов в КВ и ПП. Повышенное содержание ЕРН в ледниковых отложениях связано с материалом, который ледник захватывал и перерабатывал во время своего движения. В частности, материал представлен древними гранитами архея и протерозоя, ассимилированный ледником с окраин Балтийского щита [24].

Содержание исследуемых ЕРН в образцах Ленинградской обл. и Крыма отличается. Так, в образце ключевого туфа (79) Ленинградской обл. (Ломоносовский р-н)  $R_A$  всех ЕРН ниже минимальной детектируемой. Возможно, это связано с тем, что ключевой туф откладывается в минеральных источниках, содержащих большое количество углекислоты [1], а также заболоченностью участка, на котором закладывался разрез [26]. Образцы элюво-делювия Ордовикских известняков отличаются между собой: образец из Ломоносовского р-на содержит максимальное количество  $^{226}\text{Ra}$  даже по сравнению с другими исследуемыми породами, а  $^{40}\text{K}$  – наравне с моренными и озерно-ледниковыми отложениями. Такие высокие значения  $R_A$  ЕРН связаны с территориальными (геологическими) особенностями участка. Так, по данным Красной книги почв Ленинградской обл., территория, на которой был заложен разрез и отбирался образец, сложена нижнеордовикскими известняками, подстилаемыми кембрийскими синими глинами [25, 26]. По своему минералогическому составу кембрийские глины состоят, в частности, из полевых шпатов, слюд (биотита) и глауконита, содержащих калий в существенных количествах: от 4.5–9.4% в биотитах и глауконитах и до 16.9% в ортоклазах (полевой шпат). По данным С.В. Лебедева радиоактивность синих глин на 50% обусловлена содержанием  $^{40}\text{K}$  и еще на 36% –  $^{232}\text{Th}$  [39]. Показательно, что в другом образце ПП (80) Ордовикского известняка Гатчинского района [26], для которого отсутствует близкое залегание кембрийской глины, удельная активность ЕРН очень низкая.

Горный Крым можно отнести к территории, где влияние подстилающих пород выражено наиболее сильно. На четырех участках из пяти (Никитский ботанический сад: мыс Мартыан, гора Ай-Петри, Крымский природный заповедник и с. Веселое) подстилающими породами являются верхнеюрские отложения, представленные известняками, глинами, песчаниками, алевролитами и конгломератами. По литературным данным,

известняки характеризуются низким содержанием урана и, в особенности,  $^{232}\text{Th}$ , а среднее содержание  $^{40}\text{K}$ ,  $^{238}\text{U}$  и  $^{232}\text{Th}$  в них составляет: 90, 30 и 7 Бк/кг соответственно [18, 35, 39, 40]. Повышенное содержание ЕРН в элюво-делювии П, с одной стороны, будет связано с глинистыми сланцами (88, 89) ( $^{40}\text{K}$  – 700 Бк/кг;  $^{238}\text{U}$  – 44 Бк/кг;  $^{232}\text{Th}$  – 45 Бк/кг), распространенными на территории горного Крыма и играющими роль ПП [18, 27, 36], с другой стороны – малой мощностью КВ и близким залеганием более древних коренных пород. Геологические породы пятого участка (гора Аю-Даг, образец 82) представлены среднеюрскими интрузиями – габбро-диабазами (габбродолерит) [33]. Такая разница в подстилающих породах, а следовательно, в их минеральном составе сказывается на меньшей активности ЕРН, в особенности  $^{40}\text{K}$ , в образце из пятого участка. Это, вероятно, связано с особенностями минералогического состава подстилающей породы (преобладанием плагиоклаза и авгита в габбро-диабазе) [27].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследовано восемь основных литологических типов ПП ЕТР. Установлены диапазоны и средние значения  $R_A$  ЕРН, полученные по единой методике (табл. 1) с использованием Биоресурсной коллекции почвенных монолитов и образцов Центрального музея почвоведения им. В.В. Докучаева.

Установлено, что на уровне литологических типов ПП последовательность увеличения  $R_A$  ЕРН отличается от групповой, при сохранении общей тенденции. Так, наиболее низкие значения  $R_A$   $^{226}\text{Ra}$  и  $^{232}\text{Th}$  отмечаются в водно-ледниковых и аллювиальных отложениях, а для  $^{40}\text{K}$  – в аллювиальных и красно-бурых глинах. Наиболее высокое содержание  $^{226}\text{Ra}$  и  $^{232}\text{Th}$  отмечено в озерно-ледниковых и элюво-делювии коренных карбонатных отложениях, а  $^{40}\text{K}$  – в озерно-ледниковых отложениях и моренах. При этом внутри первой ПП отмечено возрастание содержания всех ЕРН в последовательности: красно-бурые глины – лесовидные – покровные отложения, а во второй: водно-ледниковые – морены – озерно-ледниковые отложения.

Полученные результаты соответствуют диапазонам и средним значениям, приведенным в литературе: морены и озерно-ледниковые отложения в сравнении с кристаллическими гранитными породами (только по  $^{40}\text{K}$ ) и элюво-делювий коренных карбонатных отложений Крыма и Ленинградской обл. по  $^{232}\text{Th}$  и  $^{40}\text{K}$  в сравнении с глинистыми сланцами и известняками.

За основные диагностические признаки литологических типов ПП приняты гранулометриче-

ский состав и реакция среды (рН). Установлена прямая взаимосвязь между содержанием  $^{226}\text{Ra}$  и  $^{40}\text{K}$  с основной фракцией гранулометрического состава ПП первой группы – крупной пылью, а также обратная взаимосвязь:  $^{226}\text{Ra}$  с мелкой пылью (0.005–0.001 мм) и физической глиной;  $^{40}\text{K}$  – с песчаными фракциями. Существенная (обратная) взаимосвязь для  $^{232}\text{Th}$  отмечена только для фракции физической глины. Существенные корреляционные взаимосвязи для ПП второй группы более выражены: так для  $^{232}\text{Th}$  и  $^{40}\text{K}$  обратные взаимосвязи отмечены с содержанием песчаных фракций, а прямые со всеми фракциями менее 0.01 мм. Для  $^{226}\text{Ra}$  взаимосвязь отмечена только с илистой фракцией и физической глиной. Существенная корреляционная взаимосвязь содержания ЕРН с кислотностью почв отмечена только для образцов первой группы ПП.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Самойлова Е.М.* Почвообразующие породы. М.: Изд-во МГУ, 1991. 176 с., ил. [*Samoilova E.M.* Pochvoobrazuyushchie porody. M.: Izdatel'stvo MGU, 1991. 176 p. (In Russ.)]
2. *Барсуков А.О., Языкеев Д.В.* Горизонтальная и вертикальная миграция  $^{40}\text{K}$ ,  $^{137}\text{Cs}$ ,  $^{226}\text{Ra}$ ,  $^{232}\text{Th}$  и  $^{241}\text{Am}$  на обрабатываемых склоновых агроландшафтах Пензенской области различной степени крутизны // Изв. Пензенского гос. пед. ун-та им. В.Г. Белинского. 2012. № 29. С. 369–374. [*Barsukov A.O., Yazykeev D.V.* Gorizontalnaya i vertikal'naya migratsiya  $^{40}\text{K}$ ,  $^{137}\text{Cs}$ ,  $^{226}\text{Ra}$ ,  $^{232}\text{Th}$  i  $^{241}\text{Am}$  na obrabatyvaemykh sklonovykh agrolandshaftakh Penzenskoi oblasti razlichnoi stepeni krutizny // *Izvestiya Penzenskogo pedagogicheskogo universiteta im. V.G. Belinskogo.* 2012. № 29. P. 369–374 (In Russ.)]
3. *Manigandan P.K., Manikandan N.M.* Migration of radionuclide in soil and plants in the Western Ghats environment // *Iran. J. Radiat. Res.* 2008. V. 6. № 1. P. 7–12.
4. *Gomes M.E.P., Martins L.M.O., Neves L.J.P.F. et al.* Natural radiation and geochemical data for rocks and soils, in the North International Duoro Cliffs (NE Portugal) // *J. Geochem. Explorat.* 2013. V. 130. P. 60–64. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2013.03.001>
5. Sources, effects and risks of ionizing Radiation, United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation (UNSCEAR) 2017 Report.) New York: United Nations (UN), 2018. 191 p. <https://doi.org/10.18356/7e4f1c5a-en>
6. *Щеглов А.И., Цветнова О.Б.* Биологический круговорот  $^{137}\text{Cs}$  и  $^{40}\text{K}$  в дубравах и агрофитоценозах на темно-серых лесных почвах Тульской области России // Радиационная биология. Радиоэкология. 2017. Т. 57. № 2. С. 201–209. [*Shcheglov A.I., Tsvetnova O.B.* Biologicheskii krugovorot  $^{137}\text{Cs}$  i  $^{40}\text{K}$  v dubravakh i agrofitotsenozakh na temno-serykh lesnykh pochvakh Tul'skoi oblasti Rossii // *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya.* 2017. V. 57. № 2. P. 201–209 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.7868/S0869803117020138>
7. *Паницкий А.В., Лукашенко С.Н., Магашева Р.Ю.* Особенности вертикального распределения радионуклидов в почвах условно-чистой территории бывшего Семипалатинского испытательного полигона // Радиационная биология. Радиоэкология. 2016. Т. 56. № 6. С. 623–638. [*Panitskii A.V., Lukashenko S.N., Magasheva R.Yu.* Osobennosti vertikal'nogo raspredeleniya radionuklidov v pochvakh uslovno-chistoi territorii byvshego Semipalatinskogo ispytatel'nogo poligona // *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya.* 2016. V. 56. № 6. P. 623–638 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.7868/S0869803116050131>
8. *Гончаров Е.А., Пигалин Д.И.* Распределение естественных и техногенных радионуклидов в лесных экосистемах заповедника “Большая Кокшага” // Вестн. ПГТУ. 2013. Т. 20. № 4. С. 76–87. [*Goncharov E.A., Pigalin D.I.* Raspredelenie estestvennykh i tekhnogennykh radionuklidov v lesnykh ekosistemakh zapovednika “Bol'shaya Kokshaga” // *Vestnik PGTU.* 2013. V. 20. № 4. P. 76–87 (In Russ.)]
9. *Буряева Е.А., Малышевский В.С., Вардуни Т.В. и др.* Содержание и распределение естественных радионуклидов в различных типах почвы Ростовской области // Совр. проблемы науки и образования. 2013. № 4. С. 1–9. [*Buraeva E.A., Malyshevsky V.S., Varduny T.V. et al.* Distribution of natural radionuclides in the soil of the Rostov region // *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya.* 2013. № 4. P. 1–9 (In Russ.)]
10. *Титаева Н.А.* Ядерная геохимия. 2-е изд. М.: Изд-во МГУ, 2000. 336 с. [*Titaeva N.A.* Yadernaya geokhimiya. 2-e izd. M.: Izdatel'stvo MGU, 2000. 336 p. (In Russ.)]
11. *Pavlidou S., Koroneos A., Papastefanou C. et al.* Natural radioactivity of granites used as building materials // *J. Environ. Radioact.* 2006. № 89. P. 48–60. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2006.03.005>
12. *Шуктомова И.И., Титаева Н.А., Таскаев А.И. и др.* Поведение  $^{238}\text{U}$ ,  $^{232}\text{Th}$  и  $^{226}\text{Ra}$  в почвах горной тундры // Почвоведение. 1983. № 8. С. 49–53. [*Shuktomova I.I., Titaeva N.A., Taskaev A.I. et al.* Povedenie  $^{238}\text{U}$ ,  $^{232}\text{Th}$  i  $^{226}\text{Ra}$  v pochvakh gornoj tundry // *Pochvovedenie.* 1983. № 8. P. 49–53 (In Russ.)]
13. *Баранов В.И., Морозова Н.Г., Кунашева К.Г. и др.* Геохимия некоторых естественных радиоактивных элементов в почвах // Почвоведение. 1963. № 8. С. 11–20. [*Baranov V.I., Morozova N.G., Kunasheva K.G. et al.* Geokhimiya nekotorykh estestvennykh radioaktivnykh elementov v pochvakh // *Pochvovedenie.* 1963. № 8. P. 11–20 (In Russ.)]
14. *Балыкин Д.Н., Ельчинонова О.А.* Естественные радионуклиды в почвах Уймонской котловины (Центральный Алтай) // Ползунковский Вестник. 2006. № 2. С. 309–312. [*Balykin D.N., El'chinonova O.A.* Estestvennye radionuklidy v pochvakh Uimonskoi kotloviny (Tsentral'nyi Altai) // *Polzunovskii Vestnik.* 2006. № 2. P. 309–312 (In Russ.)]
15. *Егорова И.А., Пузанов А.В., Балыкин С.Н. и др.* Естественные радионуклиды ( $^{238}\text{U}$ ,  $^{232}\text{Th}$ ,  $^{40}\text{K}$ ) в высокогорных почвах Северо-Западного Алтая // Мир науки, культуры и образования. 2007. Т. 4. № 7. С. 16–19. [*Egorova I.A., Puzanov A.V., Balykin S.N. et al.* Estestvennye radionuklidy ( $^{238}\text{U}$ ,  $^{232}\text{Th}$ ,  $^{40}\text{K}$ ) v vysokogornnykh pochvakh Severo-Zapadogo Altaya // *Mir nauki, kul'tury i obrazovaniya.* 2007. T. 4. № 7. S. 16–19.]

- nauki, kul'tury i obrazovaniya. 2007. V. 4. № 7. P. 16–19 (In Russ.)]
16. Дубенок Н.Н., Тобратов С.А., Мажайский Ю.А., Кононова Г.А. Природные и техногенные факторы естественной радиоактивности почв центра России. Доступно по: [https://www.rsu.edu.ru/wp-content/uploads/2015/03/17-Statia\\_RASH-N\\_160210.pdf](https://www.rsu.edu.ru/wp-content/uploads/2015/03/17-Statia_RASH-N_160210.pdf). Ссылка активна на 27.07.2020
  17. Peng-Chu Zhang, Patrick V.B. Geochemistry of Soil Radionuclides. Madison, Wisconsin, USA: Soil Science Society of America Inc., 2002. 263 p. <https://doi.org/10.2136/sssaspecpub59>
  18. Абдулаева А.С. Радиоактивность горных пород, почв, природных вод Дагестана и обусловленные ими эффективные дозы // Юг России: экология, развитие. 2012. № 3. С. 89–106. [Abdulaeva A.S. Radioaktivnost' gornyykh porod, pochv, prirodnykh vod Dagestana i obuslovlennyye imi effektivnyye dozy // Yug Rossii: ekologiya, razvitie. 2012. № 3. P. 89–106 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2012-3-89-106>
  19. Шарипов С.М., Соловьев В.И., Байджанов Д.О. и др. Исследование естественной радиоактивности горных пород Кокшетауского региона // Наука и техника Казахстана. 2004. № 2. С. 134–143. [Sharipov S.M., Solov'ev V.I., Baidzhanov D.O. et al. Issledovanie estestvennoy radioaktivnosti gornyykh porod Kokshetauskogo regiona // Nauka i tekhnika Kazakhstana. 2004. № 2. P. 134–143 (In Russ.)]
  20. Смыслов А.А. Уран и торий в земной коре. Л.: Недра, 1974. 231 с. [Smyslov A.A. Uran i torii v zemnoi kore. L.: Nedra, 1974–231. (In Russ.)]
  21. Манахов Д.В., Егорова З.Н. Формы нахождения радия-226 в подзолах Северо-Востока острова Сахалин в зоне влияния нефтедобывающего предприятия // Почвоведение. 2014. № 6. С. 744–749. [Manakhov D.V., Egorova Z.N. Speciation of radium-226 in podzols of northeastern Sakhalin in the impact zone of the oil field // Eurasian Soil Sci. 2014. № 6. P. 744–749 (In Russ. and Engl.)]
  22. Национальный атлас почв Российской Федерации / Под ред. чл.-корр. РАН С.А. Шоба. М.: Астель: АСТ, 2011. 632 с. [Natsional'nyi atlas pochv Rossiiskoi Federatsii / Pod red. S.A. Shoba. M.: Astel': AST, 2011. 632 (In Russ.)]
  23. Гагарина Э.И., Абакумов Е.В. Почвообразующие породы с элементами четвертичной геологии: Уч. пособие. СПб.: Изд-во СПбГУ, 2012. 131 с. [Gagarina E.I., Abakumov E.V. Pochvoobrazuyushchie porody s elementami chetvertichnoy geologii: Uch. posobie. SPb.: Izdatel'stvo SPbGU, 2012. 131 p. (In Russ.)]
  24. Гагарина Э.И. Литологический фактор почвообразования (на примере Северо-Запада Русской равнины). СПб.: Изд-во СПбГУ, 2004. 260 с. [Gagarina E.I. Litologicheskii faktor pochvoobrazovaniya (na primere Severo-Zapada Russkoi ravniny). SPb.: Izdatel'stvo SPbGU, 2004. 260 p. (In Russ.)]
  25. Почвы природных зон Русской равнины: Уч. пособие / Под ред. Б.Ф. Апарина, Г.А. Касаткиной. СПб.: Изд-во СПбГУ, 2008. 226 с. [Pochvy prirodnykh zon Russkoi ravniny: Uch. Posobie / Pod red. B.F. Aparina, G.A. Kasatkinoi. SPb.: Izdatel'stvo SPbGU, 2008. 226 p. (In Russ.)]
  26. Апарин Б.Ф., Касаткина Г.А., Матинян Н.Н. и др. Красная книга почв Ленинградской области. СПб.: Аэроплан, 2007. 320 с. [Aparin B.F., Kasatkina G.A., Matinyan N.N. Red data soils book of the Leningrad region. SPb.: Aeroplan, 2007. 320 p. (In Russ. and Engl.)]
  27. Геология СССР / Под ред. М.В. Муратова. М.: Изд-во Недра. Т. 8. Крым: Полезные ископаемые, 1969. 576 с. [Geologiya SSSR / Pod red. M.V. Muratova. M.: Izd-vo Nedra. V. 8. Krym: Poleznye iskopayemye, 1969. 576 p. (In Russ.)]
  28. Воробьева Л.А. (ред.) Теория и практика химического анализа почв. Монография. М.: ГЕОС, 2006. 400 с., ил. [Vorob'eva L.A. (red.). Teoriya i praktika khimicheskogo analiza pochv. Monografiya. M.: GEOS, 2006. 400, il. (In Russ.)]
  29. Активность радионуклидов в счетных образцах. Методика измерений на гамма-спектрометрах с использованием программного обеспечения "SpectraLine". Менделеев, 2014. 27 с. [Aktivnost' radionuklidov v schetnykh obraztsakh. Metodika izmerenii na gamma-spektrometrakh s ispol'zovaniem programmnoy obespecheniya "SpectraLine". Mendeleevo, 2014. 27 p. (In Russ.)]
  30. Дмитриев Е.А. Математическая статистика в почвоведении: Учебник. М.: Изд-во МГУ, 1995. 320 с. [Dmitriev E.A. Matematicheskaya statistika v pochvovedenii: Uchebnik. M.: Izdatel'stvo MGU, 1995. 320 p. (In Russ.)]
  31. Попов А.И., Игамбердиев В.М., Алексеев Ю.В. Статистическая обработка экспериментальных данных. СПб.: Изд-во СПбГУ, 2009. 50 с. [Popov A.I., Igamberdiev V.M., Alekseev Yu.V. Statisticheskaya obrabotka eksperimental'nykh dannykh. SPb.: Izdatel'stvo SPbGU, 2009. 50 p. (In Russ.)]
  32. Апарин Б.Ф., Мингареева Е.В., Санжарова Н.И. и др. Содержание радионуклидов (<sup>226</sup>Ra, <sup>232</sup>Th, <sup>40</sup>K, <sup>137</sup>Cs) // Почвоведение. 2017. № 12. С. 1457–1467. [Aparin B.F., Mingareeva E.V., Sanzharova N.I. et al. Concentrations of radionuclides (<sup>226</sup>Ra, <sup>232</sup>Th, <sup>40</sup>K, <sup>137</sup>Cs) in chernozems of Volgograd oblast sampled in different years // Eurasian Soil Sci. 2017. V. 50. № 12. P. 1395–1405. (In Russ. and Engl.)]. <https://doi.org/10.1134/S106422931712002X>
  33. Геологическая карта горного Крыма (М 1:200 000), 1984. Доступно по: <http://www.geokniga.org/maps/9305>. Ссылка активна на 09.06.2020
  34. Арбузов С.И., Рихванов Л.П. Геохимия радиоактивных элементов: Уч. пособие. 2-е изд. Томск: Изд-во Томского политехнического ун-та, 2010. 300 с. [Arbuzov S.I., Rikhvanov L.P. Geokhimiya radioaktivnykh elementov: Uch. posobie. 2 izd. Tomsk: Izdatel'stvo Tomskogo politekhnicheskogo instituta, 2010. 300 p. (In Russ.)]
  35. Геохимия редких, редкоземельных и радиоактивных элементов в пороодо- и рудообразующих процессах. Новосибирск: Наука. Сиб. отделение, 1989. 213 с. [Geokhimiya redkikh, redkozemel'nykh i radioaktivnykh elementov v porodo- i rudoobrazuyushchikh protsessakh. Novosibirsk: Nauka. Sib. otdelenie, 1989. 213 p. (In Russ.)]
  36. Новый справочник химика и технолога. Радиоактивные вещества. Вредные вещества. Гигиенические нормативы. СПб.: АНО НПО "Профессио-

- нал”, 2004. 1142 с. [Novyi spravochnik khimika i tekhnologa. Radioaktivnye veshchestva. Vrednye veshchestva. Gigienicheskie normativy. SPb.: ANO NPO “Professional”, 2004. 1142 p. (In Russ.)]
37. *Перельман А.И.* Биокосные системы Земли. М.: Наука, 1977. 160 с. [*Perel'man A.I.* Biokosnye sistemy Zemli. M.: Nauka, 1977. 160 p. (In Russ.)]
38. *Страхов Н.М.* Основы теории литогенеза. Т. 1. М.: АН СССР, 1962. 212 с. [*Strakhov N.M.* Osnovy teorii litogeneza. V. 1. M.: AN SSSR, 1962. 212 p. (In Russ.)]
39. *Лебедев С.В.* Радиоактивность осадочных пород и экологическая обстановка на территории Саблинского памятника природы // Вестн. СПбГУ. 2012. Сер. 7. Вып. 2. С. 22–32. [*Lebedev S.V.* Radioaktivnost' osadochnykh porod i ekologicheskaya obstanovka na territorii Sablinskogo pamyatnika prirody // Vestnik SPbGU. 2012. V. 7. № 2. P. 22–32 (In Russ.)]
40. *Рачкова Н.Г., Шуктомова И.И., Таскаев А.И.* Состояние в почвах естественных радионуклидов урана, радия и тория (обзор) // Почвоведение. 2010. № 6. С. 698–705. [*Rachkova N.G., Shuktomova I.I., Taskaev A.I.* The state of natural radionuclides of uranium, radium, and thorium in soils // Eurasian Soil Sci. 2010. V. 43. № 6. P. 651–658 (In Russ. and Engl.)]

## Natural Radionuclides ( $^{226}\text{Ra}$ , $^{232}\text{Th}$ , $^{40}\text{K}$ ) in the Soil-Forming Rocks of the European Territory of Russia

**E. V. Mingareeva<sup>a,b,#</sup>, B. F. Aparin<sup>a</sup>, S. V. Korovin<sup>b</sup>, N. I. Sanzharova<sup>b</sup>, and E. Yu. Sukhacheva<sup>a</sup>**

<sup>a</sup>*Central Soil Museum by V.V. Dokuchaev – Branch of the Federal Research Centre V.V. Dokuchaev Soil Science Institute, St. Petersburg, Russia*

<sup>b</sup>*Russian Institute of Radiology and Agroecology, Obninsk, Russia*

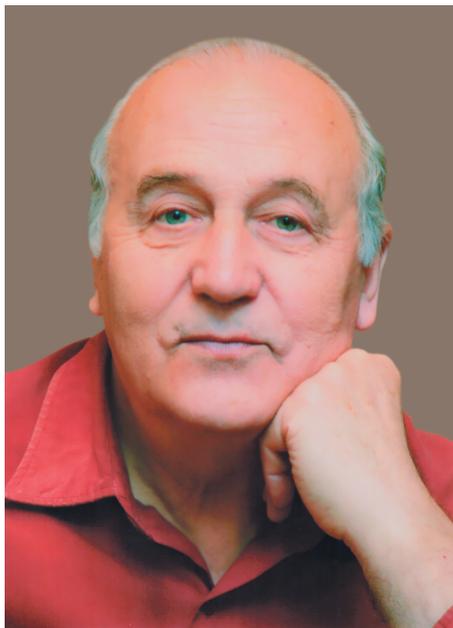
<sup>#</sup>*E-mail: elena.mingareeva@yandex.ru*

Ranges and average values of the specific activity of natural radionuclides ( $^{226}\text{Ra}$ ,  $^{232}\text{Th}$  and  $^{40}\text{K}$ ) in the main lithological types of parent rocks (red-brown clays, loess, cover, glacial, lake-glacial, fluvioglacial, alluvial deposits and eluvo – deluvial carbonate sediments) have been established. The lowest content of radionuclides is characteristic of alluvial and fluvioglacial deposits, and the highest is in lake-glacial, eluvo-deluvial carbonate sediments and moraines. The inheritance of natural radionuclides by soil-forming rocks from weathering crusts was revealed, which is most clearly manifested for rocks of glacial genesis and eluvo-deluvial of carbonate deposits. The relationship between the content of radionuclides and fractions of particle size distribution has been established.

**Keywords:** natural radionuclides, soil-forming rocks, weathering crust

## ПАМЯТИ АНАТОЛИЯ ГЕОРГИЕВИЧА КОНОПЛЯННИКОВА

DOI: 10.31857/S0869803122010106



2 октября 2021 г. после продолжительной болезни ушел из жизни Коноплянников Анатолий Георгиевич – известный ученый, один из ведущих радиобиологов России, доктор биологических наук, профессор.

Анатолий Георгиевич родился 12 октября 1937 г. в г. Ессентуки. В 1954 г. закончил среднюю школу с серебряной медалью и поступил в Ставропольский государственный медицинский институт, который окончил с отличием в 1960 г. В 1960–1962 гг. работал заведующим сельской участковой больницы Калмыцкой АССР. В 1962 г. поступил в аспирантуру Института медицинской радиологии (ИМР) АМН СССР, с которым была связана вся последующая профессиональная деятельность Анатолия Георгиевича. В 1966 г. успешно защитил кандидатскую диссертацию на тему “Некоторые аспекты биологических эффектов ионизирующей радиации с различной величиной ЛПЭ” в Ученом совете Биолого-почвенного факультета МГУ. После окончания аспирантуры до октября 2019 г. работал в ИМР (ныне Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ “Национальный медицинский исследовательский центр радиологии” Минздрава России), занимая должности младшего научного сотрудника в отделе биофи-

зики экспериментального сектора института, старшего научного сотрудника, а затем руководителя лаборатории экспериментальной лучевой терапии и заведующего отделением клеточной и экспериментальной лучевой терапии в клиническом секторе института. В 1980 г. защитил диссертацию “Количественные закономерности радиационного поражения, защиты и восстановления нормальных и опухолевых клеток в организме животного” на соискание ученой степени доктора биологических наук. В 1986 г. ему было присвоено звание профессора по специальности “Радиобиология”.

Среди российских и зарубежных ученых профессор Коноплянников известен, прежде всего, исследованиями в области радиобиологии стволовых клеток. В целом исследовательские интересы А.Г. Коноплянникова были очень широкими и включали такие области как регенеративная медицина, системная трансплантация аутологичных и аллогенных мезенхимальных стромальных клеток при терапии различных заболеваний, стволовые клетки эпителия кишечника и сперматогенного эпителия, опухолевые стволовые клетки, нанотераностика, лучевая терапия онкологических больных (комбинация с гипертермией электронно-акцепторными соединениями или с иммунотерапией), закономерности продукции и обмена оксида азота в крови и различных тканях; воздействие электромагнитных полей и СВЧ-гипертермии, радиобиология неионизирующих излучений. При этом важно, что Анатолий Георгиевич постоянно и успешно внедрял результаты экспериментальной работы в клиническую практику, помогая в лечении ишемической болезни сердца, критической ишемии нижних конечностей, хронической сердечной недостаточности, язвенного колита и болезни Крона. Многолетние исследования, которые проводились в возглавляемой А.Г. Коноплянниковым лаборатории экспериментальной лучевой терапии (с 1974 г.), внесли существенный вклад в разработку радиобиологических основ и развитие новых методов лучевой терапии. Клинические результаты, полученные профессором Коноплянниковым в составе авторского коллектива, по модификации радиочувствительности с применением локальной гипертермии, электроноакцепторных соединений, регионарной и общей гипергликемии, гипоксической

газовой смеси, лазерного воздействия в 1998 г. были удостоены Премии Правительства РФ в области науки и техники.

Профессор Коноплянников является автором более 700 научных публикаций, более десятка отдельных и коллективных научных монографий, автором и соавтором более 20 патентов на изобретения. Под его руководством защищены 21 кандидатская и 7 докторских диссертаций.

Высокие профессиональные качества, компетентность и признанный авторитет позволили ему стать членом ряда Специализированных ученых советов, Геронтологического общества при РАН, Национального общества регенеративной

медицины, Международного общества исследований стволовых клеток (ISSCR), а также успешно работать в составе редколлегии журнала “Радиационная биология. Радиоэкология”. В 2014 г. ему присвоено звание Заслуженного деятеля науки РФ.

Активная жизненная позиция, порядочность, трудолюбие, доброжелательность Анатолия Георгиевича всегда вызывали уважение друзей и коллег.

Глубоко скорбим о невосполнимой утрате, навсегда сохраним в сердцах память о замечательном человеке, настоящем ученом, друге, коллеге. Светлая память!