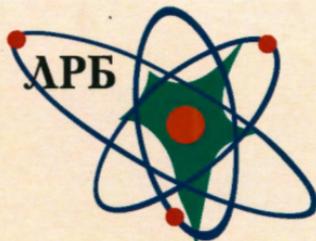


Российская академия наук
Отделение физиологических наук РАН
Объединенный институт ядерных исследований



АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ РАДИАЦИОННОЙ БИОЛОГИИ

*К 60-летию создания Научного совета РАН
по радиобиологии*

Дубна, 25–27 октября 2022 г.

Материалы конференции

**АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ
РАДИАЦИОННОЙ БИОЛОГИИ**

*К 60-летию создания Научного совета РАН
по радиобиологии*

Дубна, 25–27 октября 2022 г.

Материалы конференции

Организаторы конференции:
Научный совет РАН по радиобиологии
Радиобиологическое общество РАН
Лаборатория радиационной биологии ОИЯИ

Оргкомитет конференции

Сопредседатели:

Красавин Евгений Александрович, чл.-корр. РАН, ЛРБ ОИЯИ,

председатель Научного совета РАН по радиобиологии

Ушаков Игорь Борисович, академик РАН, ФМБЦ им. А. И. Бурназяна

ФМБА России, президент Радиобиологического общества РАН

Бугай Александр Николаевич, д. ф.-м. н., директор ЛРБ ОИЯИ

Ответственный секретарь:

Найдич Валерия Иосифовна, к. х. н., Научный совет РАН по радиобиологии

Члены оргкомитета:

Андреев Сергей Григорьевич, к. ф.-м. н., ИБХФ РАН

Борейко Алла Владимировна, д. б. н., ЛРБ ОИЯИ

Газиев Ажуб Ибрагимович, д. б. н., ИТЭБ РАН

Гераськин Станислав Алексеевич, д. б. н., ВНИИРАЭ

Гребенюк Александр Николаевич, д. м. н., АО «НИПИГАЗ»

Григорьев Олег Александрович, д. б. н., АНО «НИЦ безопасности новых технологий»

Замулаева Ирина Александровна, д. б. н., МРНЦ им. А. Ф. Цыба Минздрава РФ

Кошлань Игорь Владимирович, к. б. н., ЛРБ ОИЯИ

Рождественский Лев Михайлович, д. б. н., ФМБЦ им. А. И. Бурназяна

ФМБА России

Рубанович Александр Владимирович, д. б. н., ИОГЕН РАН

Санжарова Наталия Ивановна, чл.-корр. РАН, ВНИИРАЭ

Тимошенко Геннадий Николаевич, д. ф.-м. н., ЛРБ ОИЯИ

Хмелевский Евгений Витальевич, д. м. н., НМИЦ радиологии Минздрава РФ

Черняев Александр Петрович, д. ф.-м. н., МГУ им. М. В. Ломоносова

А43 **Актуальные проблемы радиационной биологии: Материалы конференции**
(Дубна, 25–27 октября 2022 г.). — Дубна: ОИЯИ, 2022. — 91 с.

ISBN 978-5-9530-0582-1

Сборник содержит материалы конференции «Актуальные проблемы радиационной биологии», приуроченной к 60-летию создания Научного совета РАН по радиобиологии (Дубна, 25–27 октября 2022 г.). На конференции представлены сообщения ведущих ученых об актуальных проблемах и задачах в области радиобиологии и радиозологии в свете современных тенденций развития науки.

Материалы публикуются в авторской редакции.

© Объединенный институт
ядерных исследований, 2022

ISBN 978-5-9530-0582-1

Содержание

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИЙ И ИХ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ: ПУТИ СТАБИЛИЗАЦИИ И ЗАЩИТЫ <i>С.А. Абдуллаев</i>	7
ПЕРСПЕКТИВЫ ПРЕДСКАЗАНИЯ СТРУКТУРЫ И ОТКЛИКА ГЕНОМА НА ПОВРЕЖДЕНИЯ ДНК <i>С.Г. Андреев, Ю.А. Эйдельман</i>	11
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАСТЕНИЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ <i>Е.В. Бондаренко, В.С. Бондаренко, Е.А. Казакова, С.В. Битаршивили, Е.С. Макаренко, М.С. Подлуцкий, С.А. Гераськин, П.Ю. Волкова</i>	14
РАЗВИТИЕ МАТЕМАТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ В РАДИОБИОЛОГИИ <i>А.Н. Бугай</i>	18
РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ВТОРИЧНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ, ФОРМИРУЮЩЕГОСЯ ПРИ ПРОХОЖДЕНИИ ПРОТОНОВ ЧЕРЕЗ БЕТОННУЮ КОНСТРУКЦИЮ <i>О.В. Никитенко, Т.М. Бычкова, А.Г. Молоканов, Г.Н. Тимошенко, А.А. Иванов</i>	21
РОЛЬ МИТОХОНДРИЙ В ГИБЕЛИ КЛЕТОК ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ С ЦИСПЛАТИНОМ И ЗОЛОТЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ <i>Е.Г. Гордеева, И.Н. Шейно</i>	23
ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В ИССЛЕДОВАНИЯХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ У МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ <i>Е.Б. Григоркина</i>	24
РАДИОБИОЛОГИЯ НЕИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ ЗА 60 ЛЕТ: ВАЖНЕЙШИЕ ИТОГИ И АКТУАЛЬНЫЕ ЗАДАЧИ <i>О.А. Григорьев</i>	25
ПРЕДПОСЕВНОЕ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЕ СЕМЯН КАК ФАКТОР, СТИМУЛИРУЮЩИЙ РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ В СОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ <i>Э.С. Джафаров</i>	30
РАДИОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ПОПУЛЯЦИИ ОПУХОЛЕВЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК: МЕХАНИЗМЫ, СПОСОБЫ ПРЕОДОЛЕНИЯ И КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ <i>И.А. Замулаева</i>	35

КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ФАКТОРА НА АДАПТАЦИЮ КОСМОНАВТОВ К СТРЕССОВЫМ ФАКТОРАМ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА И БЕЗОПАСНОСТЬ ПОЛЕТА <i>И.Б. Корзенева</i>	39
ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ АПОПТОЗА ПО АКТИВНОСТИ КЛЮЧЕВЫХ ГЕНОВ-ИНДУКТОРОВ И ГЕНОВ-ИНГИБИТОРОВ ПРИ НИЗКОДОЗОВОМ IN VIVO ВОЗДЕЙСТВИИ АЛЬФА- И ГАММА-ИЗЛУЧЕНИЯ <i>И.Б. Корзенева</i>	43
ЭКСПРЕССИЯ КЛЮЧЕВЫХ БЕЛКОВ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ РАСПОЗНАВАНИЯ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК, РЕПАРАЦИИ И АПОПТОЗА ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО ВЛИЯЕТ НА ИММУНИТЕТ И ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ НИЗКОДОЗОВОМ АЛЬФА- И ГАММА-ОБЛУЧЕНИИ IN VIVO. ИММУНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЧАСЫ <i>И.Б. Корзенева, Т.Т. Радзивил</i>	44
ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНГИБИТОРОВ NO-СИНТАЗ В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВ ПРОФИЛАКТИКИ ОСЛОЖНЕНИЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ В ОБЛАСТИ МАЛОГО ТАЗА <i>А.О. Косаченко, В.А. Рыбачук, К.А. Николаев, Л.И. Шевченко, О.В. Солдатова, А.А. Шитова, С.Н. Корякин, А.С. Филимонов, М.В. Филимонова</i>	45
ОЦЕНКА ДИНАМИКИ СОДЕРЖАНИЯ ЛАКТАТА В КАЧЕСТВЕ ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО МАРКЕРА РАДИОПРОТЕКТОРНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ NOS-ИНГИБИТОРА T1023 <i>В.М. Макаrchук, М.В. Филимонова, Л.И. Шевченко, А.С. Филимонов, О.С. Измestьева</i>	47
ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТЕЙ ИНГИБИТОРОВ NOS В ПРОФИЛАКТИКЕ ЛУЧЕВЫХ ПАТОЛОГИЙ, ИНДУЦИРОВАННЫХ КОРПУСКУЛЯРНЫМИ ИЗЛУЧЕНИЯМИ <i>К.А. Николаев, В.А. Рыбачук, А.О. Косаченко, Л.И. Шевченко, О.В. Солдатова, А.А. Шитова, В.О. Сабуров, А.С. Филимонов, М.В. Филимонова</i>	50
КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ФОКУСОВ БЕЛКОВ РЕПАРАЦИИ ДНК В МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЗН-ТИМИДИНА И ТРИТИРОВАННОЙ ВОДЫ <i>А.А. Осипов, М.В. Пустовалова, А.К. Чигасова, Н.Ю. Воробьева, Д.И. Кабанов, В.Г. Барчуков, О.А. Кочетков, А.Н. Осипов</i>	52
РАЗРАБОТКА ПРОТИВОЛУЧЕВЫХ СРЕДСТВ КАК АСПЕКТ РАЗВИТИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ РАДИОБИОЛОГИИ И КАК ФАКТОР ПОДДЕРЖАНИЯ РАДИАЦИОННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ <i>Л.М.Рождественский</i>	53

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕВОЛЮЦИЯ И ЕЁ УРОКИ ДЛЯ РАДИОБИОЛОГОВ	57
<i>А.В. Рубанович, Н.С. Кузьмина, Н.Ш. Лантева</i>	
ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОИЗВОДНОГО ИТМ В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВА ПРОФИЛАКТИКИ ЛУЧЕВОГО ОРАЛЬНОГО МУКОЗИТА	58
<i>В.А. Рыбачук, А.О. Косаченко, К.А. Николаев, Л.И. Шевченко, А.А. Шитова, О.В. Солдатова, С.Н. Корякин, Г.А. Демяшкин, А.С. Филимонов, М.В. Филимонова</i>	
ЗАДАЧИ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ РАДИОБИОЛОГИИ ДЛЯ РАЗВИТИЯ РАДИАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ И ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ	60
<i>Н.И. Санжарова</i>	
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ И МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ С РАЗЛИЧНЫМИ ФИЗИЧЕСКИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ	64
<i>Ю.С. Северюхин</i>	
ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ НА ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ И СЕКРЕТОРНЫЙ ПРОФИЛЬ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА	65
<i>Д.Ю. Усупжанова, Т.А. Астрелина, И.В. Кобзева, Ю.Б. Сучкова, В.А. Брунчуков, А.А. Расторгуева, В.А. Никитина, Е.Е. Ломоносова, А.С. Самойлов</i>	
КОСМИЧЕСКАЯ РАДИАЦИЯ: 60 ЛЕТ В ЭПИЦЕНТРЕ ИССЛЕДОВАНИЙ НАУЧНОГО СОВЕТА ПО РАДИОБИОЛОГИИ	66
<i>И.Б. Ушаков</i>	
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФАКТОРОВ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ ПОСЛЕДСТВИЯ АВАРИЙ НА ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС И АЭС ФУКУСИМА 1	69
<i>С.В. Фесенко</i>	
МЕДИЦИНСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ИНГИБИТОРОВ NOS В ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ И КОСМИЧЕСКОЙ РАДИОБИОЛОГИИ	73
<i>М.В. Филимонова, В.А. Рыбачук, А.О. Косаченко, К.А. Николаев, В.М. Макаrchук, Л.И. Шевченко, А.А. Шитова, О.В. Солдатова, А.С. Филимонов</i>	
СОВРЕМЕННАЯ ЛУЧЕВАЯ ТЕРАПИЯ: ПРЕДИКТОРЫ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ	75
<i>Е.В. Хмелевский</i>	

ОПЫТ ОБЩЕЙ И КОСМИЧЕСКОЙ РАДИОБИОЛОГИИ В ОТНОШЕНИИ
ОПАСНОСТИ КОСМИЧЕСКИХ ИЗЛУЧЕНИЙ, ОЦЕНКИ РИСКА В
ПРОЦЕССЕ МЕЖПЛАНЕТНЫХ ПОЛЕТОВ И УТОЧНЕНИЕ
СУММАРНОГО РАДИАЦИОННОГО РИСКА В ТЕЧЕНИЕ ЖИЗНИ
КОСМОНАВТОВ

79

А.В. Шафиркин

РЕГУЛЯЦИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ЛИПИДАХ ТКАНЕЙ
МЛЕКОПИТАЮЩИХ – ОСНОВА ФОРМИРОВАНИЯ ПОСЛЕДСТВИЙ
ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ

84

Л.Н. Шишкина, М.В. Козлов

ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕЙРОБИОЛОГИЧЕСКИХ
ЭФФЕКТОВ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ГИПОГРАВИТАЦИИ И
ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ
ЖИВОТНЫХ

88

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

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИЙ И ИХ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ: ПУТИ СТАБИЛИЗАЦИИ И ЗАЩИТЫ

С.А. Абдуллаев^{1,2}

¹Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

²ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия

email: saabdullaev@gmail.com

FUNCTIONAL ACTIVITY OF MITOCHONDRIA AND THEIR OWN GENETIC APPARATUS EXPOSED TO IONIZING RADIATION: THE WAYS OF STABILIZATION AND PROTECTION

S.A. Abdullaev^{1,2}

¹Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of RAS, Pushchino, Russia

²State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of FMBA, Moscow, Russia

email: saabdullaev@gmail.com

В последнее десятилетие, благодаря успехам в области изучения митохондриального генома и применению новых методов, накоплены новые данные, которые позволяют понять механизмы пострadiационных нарушений митохондриальных функций и их роли в развитии лучевой реакции организма. На основе результатов многих исследований в настоящее время митохондриальной ДНК (мтДНК) и сами митохондрии рассматриваются как чувствительные мишени для ионизирующей радиации (ИР) и других повреждающих агентов. Поэтому избирательное воздействие на эти структуры, вероятно, является одним из подходов к повышению эффективности радиохимиотерапии опухолей и снижению лучевой реакции организма. Наши исследования фокусируются на изучении поврежденных мтДНК, индукции окислительного стресса, обусловленного пролонгированной повышенной генерацией активных форм кислорода и азота (АФК) в клетках, подвергшихся воздействию ИР. Рассматривается возможная роль репарационных и антиоксидантных систем, а также процессов биогенеза, динамики и митофагии в поддержании функционально активных митохондрий в облученных клетках, а также поиски митохондриально-направленных соединений, влияющих на репарацию ДНК.

В последние годы радиобиологические исследования стали еще более актуальными в свете выявляемых радиационных рисков для экипажей длительных межпланетных миссий. Следует отметить, что несмотря на повышенные меры безопасности, в мире сохраняется потенциальная возможность радиационных аварий, террористических атак на радиационные объекты или взрывов «грязных радиационных бомб». В мире увеличивается количество радиоактивных материалов, ядерного оружия и ядерных энергетических установок. По данным МАГАТЭ, с развитием ядерных технологий в мире произошло около 70 малых и больших аварий, сопровождавшихся воздействием ионизирующих излучений (ИИ) на человека. В лабораториях многих стран активно развиваются исследования на молекулярном, клеточном и организменном уровнях. При этом объектами большинства исследований были и остаются пролиферирующие клетки и ткани. Предполагалось, что постмитотические ткани, в том числе центральной нервной системы (ЦНС), являются достаточно радиорезистентными. Однако результаты ряда исследований, выполненных за рубежом и в том числе выполненных нами, показывают, что ЦНС чрезвычайно уязвима к воздействию ИИ. Литературные данные указывают на возможность развития

нейродегенеративных и опухолевых патологий мозга при действии малых и больших доз ИИ.

В нашей стране проводятся ограниченные исследования по изменению функциональных реакций ЦНС и когнитивной активности животных после воздействия ИИ. А исследований по изучению молекулярных механизмов повреждения генетических структур, путей их восстановления и сохранения активности после воздействия плотниоизирующих излучений – еще меньше. Поэтому, дальнейшие исследования молекулярных и клеточных механизмов радиационного повреждения структур головного мозга остаются достаточно актуальной проблемой. Развитие этих исследований востребовано в связи с широким использованием ИИ в терапии опухолей мозга. Отсутствие достаточных знаний по воздействию космической радиации, в которой протоны занимают более 80% излучения глубокого космоса [1, 2], на здоровье космонавтов, представляется ограничивающим фактором для космических миссий за пределы околоземной орбиты.

Недавно сотрудниками нашей лаборатории в сотрудничестве с коллегами ЛРБ ОИЯИ были изучены структурно-функциональные характеристики митохондрий и их генетического аппарата в клетках разных структур центральной нервной системы млекопитающих, подвергнутых редко- и плотниоизирующими излучениями [3, 4]. Показано, что репарация повреждений яДНК в разных областях головного мозга происходит медленно в течение 24 часов; в гиппокампе репарация ядерной ДНК (яДНК) происходит гораздо медленнее, чем в остальных регионах мозга. Количество копий мтДНК в трех областях мозга крыс увеличивается с одновременным повышением уровня их гетероплазии. Однако через 24 часа после облучения количество мутантных копий мтДНК в гиппокампе значительно выше, чем в клетках коры и мозжечка. В регионах мозга облученных крыс происходит снижение экспрессии генов (*ND2*, *CytB*, *ATP5O*), участвующих в синтезе АТФ, и повышение транскриптов генов, регулирующих биогенез митохондрий (*TFAM*, *PGC-1a*). С другой стороны, анализ генов, контролирующих динамику митохондрий (*MFN1*, *FIS1*), показал их резкое снижение только в гиппокампе. В связи с этим можно полагать, что повышенный уровень гетероплазии мтДНК приводит к нарушению работы комплексов окислительного фосфорилирования и генерации повышенного уровня активных форм кислорода и азота в митохондриях, вызывающих дополнительные повреждения яДНК. Снижение экспрессии ядерных генов, регулирующих динамику митохондрий, в свою очередь, способствует снижению элиминации дисфункциональных органелл из тканей мозга. И больше всего это снижение отражалось на структурно-функциональных характеристиках гиппокампа облученных крыс.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что активность репарации яДНК, синтез мтДНК и уровень ее мутантных копий, модуляция экспрессии генов, поддерживающих митохондрии, различаются в гиппокампе, коре и мозжечке облученных крыс. Эти изменения могут привести к митохондриальной дисфункции с повышением окислительного стресса в регионах головного мозга, и могут быть сопряжены с развитием отдаленных последствий воздействия ИИ.

Усиление отсроченного окислительного стресса в облученных клетках может вызвать повреждения ядерного генома в облученных клетках и инициировать его нестабильность [5], которая играет ключевую роль в индукции канцерогенеза и нейродегенеративных нарушений [6, 7]. Поэтому результаты этих исследований подтолкнули нас на поиски митохондриально-направленных антиоксидантов способствующие предотвращению развития отдаленных последствий радиационного повреждения. Разработка таких препаратов десятилетиями находится в центре

внимания радиобиологов и радиологов [8]. Значительная доля доклинических исследуемых радиопротекторов и радиомитигаторов, занимают соединения антиоксидантного действия, поскольку развитие лучевой реакции в облученных клетках сопряжено с индукцией внутриклеточного пролонгированного окислительного стресса [9]. Среди таких соединений, чрезвычайно эффективным оказался мелатонин (N-ацетил-5-метокситриптамин), снижающий *in vitro* и *in vivo* эффекты воздействия ИИ. В настоящее время мелатонин (МЕЛ) клинически применяется как препарат, нормализующий циркадные ритмы и все чаще находит клиническое применение в качестве адьюванта при лучевой терапии опухолей.

Поэтому наши дальнейшие исследования были посвящены сравнительной оценке ряда маркеров повреждений в тканях коры головного мозга и селезенки после облучения всего тела мышей рентгеновскими лучами и возможности модуляции этих повреждений при введении МЕЛ до (режим радиопротекции) и после (режим радиомитигации) их облучения [10, 11]. Данные этого исследования показали, что повреждения яДНК на ранних пострадиационных сроках восстанавливались более активно в селезенке, чем в коре головного мозга мышей, облученных и обработанных МЕЛ. Биогенез мтДНК был активирован в обеих тканях облученных мышей. Значительная доля вновь синтезированных молекул мтДНК представляла собой мутантные копии, которые усиливают окислительный стресс с экспрессией мутантных генов в их составе. МЕЛ снижал количество мутантных копий мтДНК и уровень H_2O_2 в обеих тканях облученных мышей. МЕЛ способствовал восстановлению уровня АТФ в тканях облученных мышей. В тканях мышей после воздействия рентгеновского излучения уровень малонового диальдегида (МДА) повышался, и МЕЛ способен был его снижать. Концентрация МДА в ткани коры головного мозга была выше, чем в ткани селезенки. Однако содержание восстановленного глутатиона (ГЛТ) в селезенке было более чем в два раза ниже, чем в коре головного мозга. В тканях мышей после облучения уровень ГЛТ резко снижался. МЕЛ способствовал восстановлению уровня ГЛТ в тканях облученных мышей. Несмотря на то, что ткани селезенки и коры головного мозга мышей различались по исходным значениям анализируемых маркеров, в обеих тканях наблюдался радиопротекторный и радиомитигаторный потенциал МЕЛ.

Многочисленные исследования показывают, что МЕЛ является сильным антиоксидантом, обладающим радиопротекторным действием. Наши исследования, основанные на результатах оценки влияния МЕЛ на ткани с различной пролиферативной активностью у мышей, подвергшихся воздействию ИИ, подтверждают эту позицию. Наши результаты демонстрируют также, что МЕЛ более эффективно снижает различные радиационные повреждения при его введении мышам после их облучения. Следует также отметить, что в настоящее время обсуждается вопрос о целесообразности спленэктомии при лучевой терапии опухолей органов брюшной полости или у космонавтов во время длительных космических полетов за пределами защиты магнитосферы Земли. Конечно, данные, полученные при воздействии рентгеновских лучей на организм, трудно полностью экстраполировать на повреждение нормальных тканей в процессе адронной терапии опухолей или на воздействие космической радиации на космонавтов. Тем не менее, поскольку окислительные дистрессы разного уровня возникают, когда клетки подвергаются воздействию различных ИИ (^{56}Fe , протонов и рентгеновских лучей), представляется возможным существенно подавить их с помощью МЕЛ и воздержаться от спленэктомии.

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

Список литературы

1. Townsend L.W. Implications of the space radiation environment for human exploration in deep space // *Radiat. Prot. Dosimetry*. 2005. Vol. 115. № 1-4. P. 44-50.
2. Radstake W.E., et al. Spaceflight Stressors and Skin Health. // *Biomedicines*. 2022, 10(2):364.
3. Abdullaev S.A., Gubina N.E., Bulanova T.S., Gaziev A.I. Assessment of nuclear and mitochondrial DNA, expression of mitochondria-related genes in different brain regions in rats after whole-body X-ray irradiation. // *International Journal of Molecular Sciences*. 2020, 21(4):1196.
4. Abdullaev S.A., Bulanova T.S., Timoshenko G.N., Azhub I. Gaziev. Increase of mtDNA number and its mutant copies in rat brain after exposure to 150 MeV protons. // *Molecular Biology Reports*. 2020, Vol. 47. P. 4815-4820.
5. Kim G.J., Fiskum G.M., W.F. Morgan. A Role for mitochondrial dysfunction in perpetuating radiation induced genomic instability. // *Cancer Research*. 2006. Vol. 66. № 21. P. 10377-10383.
6. Aguilera A, Garcia-Muse T. Causes of genome instability. // *Annu. Rev. Genet*. 2013. Vol. 47. P. 1-32.
7. McKinnon P.J. Genome integrity and disease prevention in the nervous system. // *Genes. Dev*. 2017. Vol. 31. № 12. P. 1180-1194.
8. Hall E.J., Giaccia A.J. *Radiobiology for the radiologist*. 8th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2019.
9. Rosen, E.M.; Day, R.; Singh, V.K. New approaches to radiation protection. *Frontiers in Oncology*. 2015, 4, 381.
10. Abdullaev S.A., Glukhov S.I., Gaziev A.I. Radioprotective and radiomitigative effects of melatonin in tissues with different proliferative activity. // *Antioxidants*. 2021, 10(12):1885.
11. Абдуллаев С.А., Глухов С.И., Газиев А.И. Мелатонин снижает радиационные повреждения селезенки и увеличивает выживаемость при его введении до и после воздействия на мышей рентгеновского излучения. // *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2022, том 62, № 5, с. 523-531.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРЕДСКАЗАНИЯ СТРУКТУРЫ И ОТКЛИКА ГЕНОМА НА ПОВРЕЖДЕНИЯ ДНК

С.Г.Андреев^{1,2}, Ю.А.Эйдельман^{1,2}

¹Институт биохимической физики им Н.М. Эмануэля РАН, Москва, РФ,

²Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ
andreev_sg@mail.ru

PREDICTING GENOME STRUCTURE AND RESPONSE TO DNA DAMAGE. PERSPECTIVES

S.G.Andreev^{1,2}, Y.A.Eidelman^{1,2}

¹N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, Moscow, Russian Federation,

²National Research Nuclear University MEPhI, Moscow, Russian Federation
andreev_sg@mail.ru

На 11 Симпозиуме по Микродозиметрии был продемонстрирован подход к созданию моделей пространственной структуры мишеней действия радиации в клетке, фибриллы и доменов хроматина и их применения в микродозиметрических вычислениях [1-3]. Результаты последующих работ подтвердили важность учета структурного фактора для прогнозирования радиационных повреждений ДНК и оценке радиобиологических эффектов. В данном докладе обсуждаются возможности развития и применения указанного подхода для решения ряда проблем: предсказания зависимости относительной биологической эффективности (ОБЭ) от линейной передачи энергии излучения (ЛПЭ), оценки вклада крупномасштабной структуры хромосом в образование радиационно-индуцированных (РИ) aberrаций хромосом, разработке новых компьютерных технологий предсказания структурной организации хромосом.

Проблема теоретического описания зависимости ОБЭ от ЛПЭ впервые изучалась в [4,5], где была разработана модель и описаны кривые ОБЭ для клеточной гибели от ЛПЭ в клетках прокариот, а затем и эукариот. Мы изучали возможность описания ОБЭ-ЛПЭ зависимости для РИ злокачественной трансформации клеток *in vitro* на основе двухстадийной клональной модели с учетом структуры предполагаемой мишени на уровне фибриллы хроматина и целых хромосом [6]. Двойные разрывы ДНК (ДР) кластеризуются в пространстве за счет надмолекулярной организации ДНК в хроматине и приводят к микроскопическим перестройкам структуры на уровне 50-130 тыс.п.н. – микроделециям, -инсерциям, -инверсиям. Часть таких перестроек может наследоваться в потомках облученных клеток. Также проверялась гипотеза о вкладе высших уровней организации ДНК в хромосомах в ЛПЭ-зависимость РИ злокачественной трансформации. Расчеты частот внутрихромосомных aberrаций для ионизирующей радиации разного качества предсказывают более крупные перестройки генетического материала, от нескольких до десятка миллионов нуклеотидных пар (млн п.н.), простые и комплексные ацентрические и центрические кольца, инверсии и др. Хотя в модели злокачественной трансформации клеток не учитывался ряд факторов (хромосомная нестабильность, конфлуэнтность и др.), ее предсказания ЛПЭ зависимости трансмигрирующих перестроек на уровне петель хроматина, а также на хромосомном уровне, коррелируют с ЛПЭ зависимостью частоты злокачественной трансформации клеток мышей С3Н10Т1/2 *in vitro* при облучении ионами разных типов. Эта корреляция предполагает, что перестройки структуры хроматина и хромосом определенного типа могут быть ранними иницирующими событиями РИ неопластической трансформации клеток. Биологические механизмы дальнейшего

вовлечения инициирующих перестроек в многостадийную злокачественную трансформацию клеток могут быть различными и требуют дальнейшего изучения.

Модели структуры хромосом и хромосомных перестроек в [6] основывались на косвенных данных по структуре хромосом, имели низкое разрешение и содержали ряд произвольных предположений. Чтобы обеспечить более точное предсказание 3Д-структуры хромосом, мы изменили подход к моделированию и разработали технологию описания частот контактов хромосомных локусов и предсказания внутривхромосомных aberrаций с учетом данных 3Д-геномики, полученных методами Hi-C и HTGTS. Комбинируя полимерное моделирование хромосом и хромосомных aberrаций, индуцированных γ -излучением и другим ДНК-повреждающим фактором, нуклеазой I-SceI, мы рассчитали ряд величин и распределений, которые количественно согласуются с экспериментальными данными для хромосом иммортализованных мышинных про-В клеток: описали карты контактов хромосом и распределения брэкпойнтов aberrаций для разных хромосом с высоким разрешением, объяснили высокие частоты внутривхромосомных брэкпойнтов далеко за пределами места индукции нуклеазных ДР ДНК и др. [7]. Совместный анализ данных Hi-C, HTGTS и физическое моделирование дает ответы на ряд вопросов, которые не были решены экспериментально. В частности, как гетерогенность структуры хромосом проявляется в распределении брэкпойнтов внутривхромосомных обменных aberrаций от γ -излучения и нуклеаз, играет ли доминирующую роль механизм «предсуществующего контакта» или включается динамика поврежденных локусов, является ли принцип структурной организации мышинных хромосом фрактальной глобулой и др. Также представлены примеры получения информации о конформациях хромосом в раковых клетках человека на основе геномных Hi-C данных.

Среди возможных расширений представленного подхода к моделированию 3Д-структуры хромосом и хромосомных aberrаций может быть оценка геномных перестроек не только в результате РИ ДР ДНК, но и повреждений ДНК после химиотерапевтического воздействия, предсказания структурных вариаций в раковых геномах и др. Будущие исследования позволят проанализировать предлагаемую гипотезу о том, что адаптация 3Д-генома к хроническому стрессу (рекуррентные нуклеазы, репликативный стресс, инфламация, измененное микроокружение хромосом и клеток, изменение спектра структурных белков, эпигенетические модификации и др.) может быть движущей силой перехода генома в измененное, «раковое» состояние. Необходимы разработки предсказательных моделей и алгоритмов нового поколения, позволяющие предсказывать 3Д-организацию генома как ключевого регулятора генной экспрессии, биомаркера функционального состояния и интегрального отклика на внешние воздействия.

Список литературы

1. *Chepel VYu, Khvostunov IK, Mirny LA, Talyzina TA, Andreev SG.* 3D Computer model of condensed chromatin fiber for radiation damage simulation. // The Eleventh Symposium on Microdosimetry, 13-18 Sept. 1992, Gatlinburg, Tennessee (USA), Book of abstracts; 1992. P. 22.
2. *Khvostunov IK, Chepel VYu, Andreev SG.* Calculation of DNA and chromatin breaks for low LET irradiation. // The 24-th Annual Meeting of the European Society for Radiation Biology, 4-8 Oct., 1992 Erfurt, Germany, 1992. P. 165.
3. *Chepel VYu, Khvostunov IK, Mirny LA, Talyzina TA, Andreev SG.* 3-D computer modelling of chromatin fibres for radiation damage simulation. *Radiat. Prot. Dosim.* 1994;52(1-4):259-263. doi: 10.1093/oxfordjournals.rpd.a082197.

4. Козубек С., Красавин Е.А. Биологическая эффективность ионизирующей радиации разного качества в бактериях *Escherichia coli* (Теоретический анализ). Модель инактивации клеток // Радиобиология. – 1984. – Т. 24. – № 4. – С. 456–461. [Kozubek S., Krasavin EA. Biological effectiveness of ionizing radiations of various quality in *Escherichia coli* bacteria (a theoretical analysis). A cell inactivation model. Radiobiologiya 1984;24(4):456-461. (In Russ.)].
5. Красавин Е.А. Проблема ОБЭ и репарация ДНК. – М.: Энергоатомиздат, 1989. – 193 с. [Krasavin EA. Problema OBE i reparatsiya DNK. Moskva: Energoatomizdat; 1989. 193 p. (In Russ.)]
6. Andreev SG., Eidelman YA, Salnikov IV, Khvostunov IK. Mechanistic modelling of genetic and epigenetic events in radiation carcinogenesis. Radiat. Prot. Dosim. 2006;122(1-4):335-339. doi: 10.1093/rpd/ncl463.
7. Eidelman Y, Salnikov I, Slanina S, Andreev S. Chromosome folding promotes intrachromosomal aberrations under radiation- and nuclease-induced DNA breakage. Int. J. Mol. Sci. 2021;22:12186. doi: 10.3390/ijms222212186.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАСТЕНИЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Е.В. Бондаренко, В.С. Бондаренко, Е.А. Казакова, С.В. Битаршвили, Е.С. Макаренко,
М.С. Подлущкий, С.А. Гераськин, П.Ю. Волкова

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и
агрэкологии», г. Обнинск, Российская Федерация
e-mail: bev_1408@mail.ru

MOLECULAR AND PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PLANTS GROWING UNDER CHRONIC EXPOSURE TO IONIZING RADIATION

E.V. Bondarenko, V.S. Bondarenko, E.A. Kazakova, S.V. Bitarishvili, E.S. Makarenko,
M.S. Podlutskiy, S.A. Geras'kin, P.Yu. Volkova

Russian Institute of Radiology and Agroecology, Obninsk, Russian Federation,
e-mail: bev_1408@mail.ru

Загрязненные радионуклидами территории после аварий на Чернобыльской атомной электростанции (АЭС, 1986 г.) и на АЭС «Фукусима» (2011 г.) являются уникальными экспериментальными площадками для изучения сочетанного влияния на компоненты биоты ионизирующего излучения и климатических факторов.

Проведена многолетняя исследовательская работа по анализу радиобиологических реакций на хроническое облучение радиочувствительных видов растений: сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris* L.), сосна красная (*Pinus densiflora* Siebold et Zucc.) и радиорезистентных: резуховидка Таля (*Arabidopsis thaliana* L.), пастушья сумка обыкновенная (*Capsella bursa-pastoris* L.).

Экспериментальные участки для изучения эффектов хронического радиационного воздействия расположены на территориях, загрязненных радионуклидами в результате аварии на Чернобыльской АЭС, в Брянской области Российской Федерации и на территории Полесского государственного радиационно-экологического заповедника (ПГРЭЗ) в Гомельской области Республики Беларусь. В качестве контрольных выбраны участки Брянской области (Выгоничский и Унечский районы) и за пределами ПГРЭЗ (Козелужское лесничество) с фоновым уровнем радиоактивного загрязнения. Почвенные характеристики, содержание тяжелых металлов и погодные условия на всех экспериментальных участках были сходны. Уровень годовой поглощенной дозы на экспериментальных участках, где отбирали пробы биологического материала, варьировал от 0,03 мГр/год на контрольных участках до 215 мГр/год на наиболее загрязненных участках в зоне отчуждения Чернобыльской АЭС.

В префектуре Фукусима были заложены 4 экспериментальных участка в зоне, подвергшейся радиоактивному загрязнению, и контрольный участок – на территории Фукусимского университета. Участки характеризовались сходными условиями произрастания и почвенными характеристиками. Уровень поглощенной дозы варьировал от 2,4 мГр/год на контрольном участке до 57 мГр/год на наиболее радиоактивно загрязненном участке.

Сосна обыкновенная и сосна красная являются лесообразующими видами, обладают высокой чувствительностью к радиационному воздействию и могут рассматриваться как модельные объекты для оценки последствий техногенного воздействия на экосистемы.

При хроническом облучении у красной японской сосны обнаружена повышенная частота нарушений апикального доминирования и выявлен ряд

морфологических изменений хвои [1]. Обнаружено увеличение длины и массы хвои. На площадке с максимальным уровнем радиоактивного загрязнения увеличен индекс флуктуирующей асимметрии длины хвои, характеризующий нарушение стабильности развития. Выявлена повышенная частота сильно пораженных некрозом хвоинок на большинстве радиоактивно загрязненных участков [2]. В случае сосны обыкновенной устойчиво воспроизводимого влияния длительного хронического облучения на морфологические показатели хвои и частоту некротических образований не обнаружено [3].

У импактных популяций сосны красной, так же, как и сосны обыкновенной отмечены статистически значимо более высокие по сравнению с контрольными популяциями уровни цитогенетических нарушений (анализ анателофазных клеток) в корневой меристеме проростков семян и интеркалярной меристеме хвои [1, 4]. Показано, что хроническое радиационное воздействие способно разрушать закономерности временной динамики развития хвои в популяциях сосны обыкновенной [5].

Отмечено, что хроническое радиационное воздействие изменяет соотношение основных классов фитогормонов в хвое красной японской сосны: повышает концентрации индолилуксусной кислоты, зеатина и АБК и снижает концентрации гибберелловой кислоты [6].

Реакция растений на стресс часто связана с увеличением содержания АБК, а также соотношения между АБК и цитокининами, в частности зеатином [7]. Наибольшее содержание АБК и относительно высокое, по сравнению с контролем, содержание зеатина выявлено у растений радиорезистентного вида резуховидки Тала, выросших из семян с наиболее радиоактивно загрязненного участка ПГРЭЗ [8]. Динамика прорастания семян с загрязненных радионуклидами территорий статистически значимо отличалась от семян контрольного участка: семена с загрязненных участков прорастали значительно медленнее и с меньшим процентом всхожести [8].

Анализ генетической структуры популяций сосны обыкновенной методом полиморфизма длины амплифицированных фрагментов (AFLP-анализ) показал, что число полиморфных локусов в изученных популяциях значимо не связано с уровнем радиационного воздействия ($r = 0,65$, $p = 0,08$) [9]. Однако, дендрограмма, построенная на основе генетических расстояний Нея, кластеризовала популяции не только по географическому положению, но и по уровню радиационного воздействия [9]. Анализ генетического разнообразия с применением праймеров, разработанных к длинным концевым повторам дифференциально экспрессируемых ретротранспозоноподобных фрагментов сосны обыкновенной (IRAP-анализ), распределил Чернобыльские популяции сосны обыкновенной по уровню радиоактивного загрязнения, а популяции красной японской сосны – по географическому положению. В целом, увеличение показателя среднего генетического разнообразия Нея, рассчитанного с использованием как AFLP-, так и IRAP-маркеров, демонстрирует, что в среднесрочной перспективе хроническое низкодозовое облучение способно менять генетическую структуру популяций растений.

Эпигенетические модификации представляют собой механизм, лежащий в основе способности растений сопротивляться долговременному стрессу без изменений в последовательности ДНК. Оценка глобального уровня метилирования методом ВЭЖХ-МС и иммуоферментного анализа (ИФА) показала, что геномы сосны обыкновенной, произрастающих на радиоактивно загрязненных территориях, были значимо гиперметилованы по сравнению с контрольными участками. Популяции красной японской сосны показали обратную картину: степень метилирования,

оцененная ИФА, снижается с увеличением уровня радиоактивного загрязнения. Оба вида растений показали статистически значимую положительную корреляцию между уровнями метилирования и гидроксиметилирования.

Анализ транскриптома хвои *P. sylvestris* методом высокопроизводительного секвенирования РНК выявил дифференциально экспрессирующиеся гены, общие для загрязненных радионуклидами популяций. Из пяти выявленных генов с пониженной экспрессией четыре были связаны с ответом на стресс: транскрипт анионной пероксидазы, вовлеченный в апоптоз, и три транскрипта, связанные с сигналингом абсцизовой кислоты (АБК) – *CIPKK*, *CIPKA* и *SLAC1* [10]. Анализ транскриптома не выявил активации процессов репарации в хронически облучаемых растениях и процессов элиминации активных форм кислорода (АФК) в ферментных реакциях [10]. Анализ компонентов антиоксидантной системы также не выявил изменений активности антиоксидантных ферментов.

Сходный профиль транскрипционного ответа на хроническое облучение был выявлен в популяциях радиорезистентного вида травянистых растений – пастушьей сумки обыкновенной. Продукты генов, общих для радиоактивно загрязненных участков, и дифференциально экспрессирующихся по отношению к контрольному участку, вовлечены во все основные метаболические пути, в катаболизм белков, регуляцию транскрипции, трансдукцию сигналов, ответы на стресс, транспорт, фитогормональный сигналинг, процессы генерации АФК и антиоксидантные процессы. Среди 25 дифференциально экспрессирующихся генов, чья экспрессия сильнее всего отличалась от контрольной, отмечены гены мобильных генетических элементов, гистонов, шаперонов, фактор транскрипции, контролирующей АБК-опосредованный сигналинг и белков, напрямую контролирующей активацию тиоредоксинов (которые, в свою очередь, определяют окислительно-восстановительный потенциал клеток и передачу сигналов) [11]. Отмечена выраженная репрессия генов, продукты которых участвуют в репарации ДНК после разрыва цепи и в поддержании теломера, а также гена, вовлеченного в биосинтез гиббереллина С-20 [11].

Анализ транскриптомных профилей растений *A. thaliana* в двух загрязненных радионуклидами популяциях выявил 80 генов с повышенной экспрессией и 25 генов – с пониженной. Общие для загрязненных популяций дифференциально экспрессирующиеся гены в основном были связаны с фитогормонами, транскрипционным и трансляционным контролем (включая длинные некодирующие РНК), защитными реакциями, окислительно-восстановительными процессами, сигнальной трансдукцией и развитием растений.

Данные о молекулярных процессах, опосредующих адаптивные реакции в ответ на хроническое облучение, имеют прикладное значение и могут быть использованы в биотехнологии растений для получения стрессоустойчивых сортов сельскохозяйственных культур. Транскриптомные профили облученных растений *S. bursa-pastoris*, *A. thaliana* и *P. sylvestris* характеризуются контролем активности мобильных генетических элементов, отсутствием активации репарации ДНК, изменением метаболизма тиоредоксинов и глутатиона, контролем сигналинга пероксида водорода и АБК, а также повышением экспрессии генов, кодирующих гистоны и шапероны. В результате многолетнего наблюдения и исследований были выбраны гены – мишени для геномного редактирования, кодирующие: белок, вовлеченный в кальциевый сигналинг; мембранный белок, вовлеченный в передачу АБК-зависимых сигналов; и белок биосинтеза жасмоновой кислоты.

Благодарности: исследования проведены при поддержке грантов РФФ № 20-74-10004, 21-16-00004, 14-14-00666 и РФФИ № 19-54-50003.

Список литературы

1. *Geras'kin S, Yoschenko V, Bitarishvili S, et al.* Multifaceted effects of chronic radiation exposure in Japanese red pines from Fukushima prefecture. *Sci Total Environ.* 2021;763:142946. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.142946.
2. *Макаренко Е.С., Гераськин С.А., Йошченко В.И., и др.* Морфологические особенности хвои красной японской сосны в районе аварии Фукусимской АЭС // *Лесоведение.* – 2021. – №2. – С. 123–131. [*Makarenko ES, Geras'kin SA, Yoshenko VI et al.* Morphological Characteristics of Japanese Red Pine Needles from The Areas of The Accident at the Fukushima NPP. *Lesovedenie.* 2021;2:123-131 (In Russ.)] doi: 10.31857/S0024114821010071.
3. *Makarenko ES, Oudalova AA, Geras'kin SA.* Morphometric Indices of Scots Pine Needle Under Chronic Radiation Exposure. *Contemporary Problems of Ecology.* 2017;10(7):761-769. doi: 10.1134/S1995425517070083.
4. *Geras'kin S., Volkova P., Vasiliyev D. et al.* Scots pine as a promising indicator organism for biomonitoring of the polluted environment: A case study on chronically irradiated populations. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2019;842:3–13. doi: 10.1016/j.mrgentox.2018.12.011.
5. *Geras'kin S., Oudalova A, Kuzmenkov A, et al.* Chronic radiation exposure modifies temporal dynamics of cytogenetic but not reproductive indicators in Scots pine populations. *Environ Pollut.* 2018;239:399-407. doi: 10.1016/j.envpol.2018.04.058.
6. *Bitarishvili SV, Geras'kin SA, Prazyan AA, et al.* Change in The Phytohormonal Status of Japanese Red Pine After the Fukushima Accident. *Russian Journal of Ecology.* 2021;52(2):109-117. doi: 10.1134/S1067413621020041.
7. *Samsonova Z, Kiran NS, Novak O, et al.* Steady-state Levels of Cytokinins and Their Derivatives May Serve as a Unique Classifier of Arabidopsis Ecotypes. *Plants (Basel).* 2020; 9(1):116. doi: 10.3390/plants9010116.
8. *Бондаренко Е.В., Подобед М.Ю., Бабина Д.Д., и др.* Анализ параметров прорастания семян потенциальных экотипов *Arabidopsis thaliana* с загрязненных радионуклидами территорий и оценка соотношения абсцизовой кислоты к зеатину в ювенильных растениях // *Радиоэкологические последствия радиационных аварий – к 35-ой годовщине аварии на ЧАЭС: Сборник докладов.* – Обнинск, 2021. – С. 42-45. [*Bondarenko EV, Podobed MYu, Babina DD et al.* Analysis of Seeds Germination Parameters in Eventual Ecotypes of *Arabidopsis thaliana* from Radionuclide Contaminated Territories and Assessment of Abscisic Acid to Zeatin Ratio in Juvenile Plants. *Radioecological Consequences of Radiation Accidents – to the 35th anniversary of the Chernobyl accident: Proceedings of the International Research and Practice Conference, Obninsk; 2021. P. 42-45. (In Russ.)*]
9. *Volkova PY, Geras'kin SA, Horemans N., et al.* Chronic radiation exposure as an ecological factor: Hypermethylation and genetic differentiation in irradiated Scots pine populations. *Environ. Pollut.* 2018;232:105-112. doi: 10.1016/j.envpol.2017.08.123.
10. *Duarte GT, Volkova P, Geras'kin S.* The response profile to chronic radiation exposure based on the transcriptome analysis of Scots pine from Chernobyl affected zone. *Environmental Pollution.* 2019;250:618-626. doi: 10.1016/j.envpol.2019.04.064.
11. *Volkova PYu, Duarte GT, Kazakov EA, et al.* Radiosensitivity of herbaceous plants to chronic radiation exposure: Field study in the Chernobyl exclusion zone. *Science of The Total Environment.* 2021;777:146206. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146206>.

РАЗВИТИЕ МАТЕМАТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ В РАДИОБИОЛОГИИ

A.H. Bugay

Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна, Россия
bugay@jinr.ru

DEVELOPMENT OF MATHEMATICAL MODELS IN RADIOBIOLOGY

A.N. Bugay

Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, Russia
bugay@jinr.ru

Создание математических моделей в радиобиологии ведет свое начало с формулировки классического принципа попадания и теории мишени, которые сейчас отмечают столетний юбилей. С тех пор количественные предсказательные методы в радиобиологии претерпели серьезное развитие. Цель настоящей работы состоит в обзоре современного состояния и дальнейших путей применения теоретических методов в радиобиологии.

На заре развития теоретической радиобиологии количественный анализ на основе теории попаданий позволил описать основные формы кривых «доза-эффект» [1,2]. Поскольку в общем виде такой подход не учитывает природу мишени, параметры модели приходилось определять из экспериментальных данных. Несмотря на это, в ряде задач данный подход до сих пор находит успешное применение [3]. Попытки учесть специфику стохастических физико-химических процессов на масштабе клетки и предсказать различия в биологическом действии излучений разного качества привели к развитию микродозиметрии [4,5]. Появление различных моделей структуры трека [6-10], позволило в дальнейшем перейти к непосредственному расчету повреждений ДНК, решить проблему относительной биологической эффективности [11], а также перейти к описанию мутагенных эффектов излучений различного качества [12].

В настоящее время наблюдается активное применение в задачах радиобиологии программных кодов моделирования методом Монте Карло транспорта излучения в веществе (см. например, обзор [13]). Наиболее широкое распространение получили программные коды общего назначения, например, такие как MCNP, EGS, GEANT, FLUKA, PENELOPE, в связи с их применением в радиационной безопасности и разработке на их основе коммерческих систем планирования облучения в лучевой терапии. На их основе в последние десятилетия появились как модификации, например, GEANT4-DNA, так и специализированные средства моделирования KURBUC, PARTRAC, RITRACKS и др., позволяющие смоделировать физико-химические процессы в треках заряженных частиц и рассчитать индукцию прямых и не прямых повреждений ДНК, в первую очередь двунитевых разрывов. Большинство программ, за исключением пакета GEANT4, развиваемого открытым сообществом, имеют закрытый код и недоступны для широкого круга пользователей. Высокой степени детализации достигли рассматриваемые мишени — от клеток сложной геометрии [14], до моделей хроматина и элементов ДНК [15]. Однако, на текущий момент практически все указанные специализированные программные коды рассматривают в качестве материала жидкую воду как основной компонент клеток [13]. Поскольку физические модели взаимодействия для первичных и вторичных частиц, а также процесса радиолиза и диффузии его продуктов учтены только для воды, существует задача расчета процессов в молекуле ДНК, приводящих непосредственно к формированию повреждения. На данный момент проблема решается введением эмпирических вероятностей, определяемых из сравнения с экспериментальными данными. Разработка соответствующих моделей на основе квантово-химических расчетов вместе с

совершенствованием методик молекулярно-радиобиологических экспериментов позволили бы устранить эту ахиллесову пяту современных Монте Карло кодов и вывести их предсказательную способность на новый уровень.

Прогресс микродозиметрии и успехи молекулярной биологии позволили продвинуться дальше в создании моделей, объясняющих кривые «доза-эффект» на молекулярном уровне. Были разработаны математические модели разной степени сложности, учитывающие цепочку событий начиная с формирования первичных повреждений ДНК, их репарации [16], и заканчивая формированием генных [17] и структурных мутаций [18], хромосомной нестабильности [18] и т.д. Даже относительно простые механистические модели, не учитывающие полную цепочку биохимических процессов, лежащих в основе индукции повреждений ДНК и клеточной гибели, позволили достаточно хорошо воспроизвести широкий набор экспериментальных данных [20]. Повышение уровня детализации в кинетических моделях репарации позволяет, с одной стороны, учесть особенности радиочувствительности и мутагенеза различных линий клеток, в том числе с дефектами в работе определенных генов [17]. С другой стороны, это достигается ростом числа неизвестных параметров модели, рассчитать или определить из эксперимента которые становится весьма затруднительным. Таким образом, в каждом индивидуальном случае требуется нахождение определенного баланса между сложностью и затратами на создание модели и ее предсказательной способностью.

Большинство достигнутых успехов в разработке математических моделей в радиобиологии относится все же к описанию процессов на уровне отдельных клеток и гомогенных клеточных культур, т.е. фактически к воспроизведению результатов экспериментов *in vitro*. Однако в значимых практических приложениях требуется описать эффекты *in vivo* на уровне тканей и систем организма. Например, для планирования лучевой терапии важен не только расчет дозы на опухоль, который в принципе решает классическая линейно-квадратичная модель, но и прогноз поздних лучевых осложнений, где гибель нормальных клеток многочисленных разновидностей обусловлена не только повреждениями ДНК, но и воспалительными реакциями, повреждениями капилляров и т.д. Вследствие этого большинство разработанных моделей в данных задачах являются полу-эмпирическими [21,22]. Еще большую сложность вызывает предсказание нарушения нормальной работы определенных систем организма после радиационного воздействия, в особенности, центральной нервной системы, что важно для оценки радиационных рисков в ходе межпланетных космических полетов. И если гибель радиочувствительных популяций клеток мозга, например, участвующих в процессе нейрогенеза, удастся описать достаточно детально [23], то эффекты нарушений работы синапсов намного более сложная задача. Тем не менее, недавно с помощью методов молекулярной динамики удалось [24] рассчитать изменение структуры и функций белков синаптических рецепторов в результате возникновения мутаций в соответствующих генах, и далее смоделировать работу нейронных сетей определенных отделов головного мозга с такими «дефектными» синапсами. Однако в связи с очень большим количеством радиационных эффектов, оказывающих сочетанное влияние на работу нейронных сетей мозга, о формировании предсказательных моделей нарушения работы мозга в ответ на облучение говорить еще преждевременно.

Таким образом, на сегодняшний день теоретическая радиобиология достигла достаточно высокого уровня описания экспериментов *in vitro*, что в основном обусловлено успехами в разработке методов Монте Карло моделирования начальных процессов передачи энергии излучения веществу на молекулярном уровне. Ясно, что полноценное описание радиационно-индуцированных эффектов в живых системах

носит иерархический характер, когда на разных временах и пространственных масштабах необходимо создавать специализированные и согласованные друг с другом модели на основе различных математических и вычислительных подходов. Таким образом, дальнейшее развитие теоретической биологии по мере накопления наших знаний и будет состоять в пополнении и выстраивании элементов такой иерархии.

Список литературы

1. Циммер К.Г. Проблемы количественной радиобиологии. М.: Госатомиздат, 1962. 100с.
2. Тимофеев-Ресовский Н.В., Иванов В.И., Корогодин В.И. Применение принципа попадания в радиобиологии. М.: Атомиздат, 1968. 228 с.
3. Петин В.Г., Белкина С.В., Жураковская Г.П. Математические модели и реакции клеток на облучение ионизирующими излучениями разного качества. М.: Изд.ГЕОС, 2020. 263 с.
4. Хуг О., Келлерер А. Стохастическая радиобиология. М.: Атомиздат, 1969. 183 с.
5. Иванов В.И., Лысов В.Н. Основы микродозиметрии. М.: Атомиздат, 1979. 192 с.
6. Butts J. J., Katz R. Radiation Research, 1967. V. 30. P. 855-871.
7. Gunther K., Schultz W. Biophysical Theory of Radiation Action. Berlin: Akademie-Verlag, 1983.
8. Chatterjee A., Holley W.R. Int. J. Quant. Chem. 1991, V.39. P.513-531 .
9. Michalik V. Int. J. Rad. Biol., 1992. V.62. P.9-20.
10. Nikjoo H., Emfietzoglou D., Liamsuwan T., et al. Rep. Prog. Phys. 2016. V.79. P.116601.
11. Красавин Е.А. Проблема ОБЭ и репарация ДНК. М.: Энергоатомиздат, 1989. 192 с.
12. Красавин Е.А., Козубек С. Мутагенное действие излучений с разной ЛПЭ. М.: Энергоатомиздат, 1991. 184 с.
13. Kyriakou I., Sakata D., Tran H.N., et al. Cancers, 2022. V.14. P.35.
14. Batmunkh M., Aksenova S.V., Bayarchimeg L., et al. Phys. Med. 2019. V.57 P.88-94.
15. Meylan S., Incerti S., Karamitros M., et al. Sci. Rep. 2017. V.7. P.11923.
16. Belov O.V., Krasavin E.A., Lyashko M.S. et al. J. Theor. Biol. 2015. V.366. P.115-130.
17. Bugay A.N., Krasavin E.A., Parkhomenko A.Yu. et al. J. Theor. Biol. 2015. V.364. P.7-20.
18. Eidelman Y.A., Andreev S.G. Rad. Prot. Dosim. 2015. V.166. P. 80-85.
19. Эйдельман Ю.А., Славина С.В., Андреев С.Г. Рад. биология. Радиоэкология, 2013. Т.53. С.367-379.
20. McMahon S.J., Prise K.M. Front. Oncol. 2021. V. 11. P. 689112.
21. Иванов В.К. Математическое моделирование и оптимизация лучевой терапии опухолей. М.: Энергоатомиздат, 1986. 144 с.
22. Victori P., Buffa F.M. Br. J. Radiol. 2018. V.92. P.20180856.
23. Cacao E., Cucinotta F.A. Rad. Res. 2016. V. 185. P. 319-331.
24. Batova A.S., Bugay A.N., Dushanov E.B. J. Bioinf. Comput. Biol., 2019, V.17, №1, P. 1940003.

РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ВТОРИЧНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ, ФОРМИРУЮЩЕГОСЯ ПРИ ПРОХОЖДЕНИИ ПРОТОНОВ ЧЕРЕЗ БЕТОННУЮ КОНСТРУКЦИЮ

*О.В. Никитенко^{1, 2}, Т.М.Бычкова^{1, 2}, А.Г. Молоканов³, Г.Н. Тимошенко³,
А.А. Иванов^{1, 2, 3}*

¹Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

²Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва

³Объединенный институт ядерных исследований, г. Дубна
dorzhkina88@mail.ru

В процессе анализа научно-технической информации по проблеме воздействия корпускулярного, в т.ч. протонного излучения на здоровье специалистов установлена принципиальная возможность неблагоприятного воздействия вторичного излучения, формирующегося после прохождения высокоэнергетических протонов через физическую преграду на специалистов различного профиля. В их числе необходимо отметить космонавтов, работников ускорителей заряженных частиц, пациентов, проходящих курс адронной терапии.

Цель работы: исследовать радиобиологические эффекты вторичного излучения, формирующегося при прохождении высокоэнергетических протонов через бетон.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на 214 аутбредных мышах ICR CD-1, самках, с массой от 24-35 г, SPF-категории, содержащихся в конвенциональных условиях. Эксперимент выполнен на мышах, облученных вторичным излучением из бетонных мишеней, после прохождения пучка протонов диаметром 5 см на входе, с энергией 650 МэВ на фазотроне Объединенного института ядерных исследования (ОИЯИ) г. Дубна. Поле смешанного (гамма-кванты и адроны) и вторичного излучения формировалось в результате прохождения протонного пучка через бетонную конструкцию толщиной 20, 40 и 80 см. Животных располагали в специально сконструированной клетке из перфорированного пластика с девятью (1-9) ячейками для мышей, каждая размером 5×5×5 см. В каждую ячейку помещали по 2 животных. Клетку располагали горизонтально, перпендикулярно оси пучка таким образом, чтобы ось пучка проходила через ячейку 5. Для сравнения было проведено облучение мышей γ -квантами ^{60}Co в широком диапазоне доз от 0,02 Гр до 25 Гр.

Результаты. В эксперименте с γ -облучением получена классическая кривая доза-эффект по числу кариоцитов с выходом на плато при сверхлетальных дозах. Вторичное излучение, формирующееся после прохождения протонов через бетон толщиной 80 см, по всем экспериментальным точкам обусловило больший поражающий эффект в сравнении с γ -квантами, при этом отмечается определенная асимметрия биологического эффекта пучка – в ячейках с 9 по 6 он оказался выше чем в ячейках 1-4. При толщине конструкции 20 и 40 см повышение радиобиологического эффекта не было значительным. Полученные различия в биологическом эффекте вторичного излучения по толщине 80 см мы склонны объяснить присутствием в его составе существенной нейтронной компоненты.

Наиболее специфичными и достаточно чувствительными показателями радиационного воздействия являются цитогенетические эффекты в форме задержки митозов и возникновения хромосомных повреждений (аббераций).

В эксперименте с γ -облучением получена классическая кривая доза-эффект с рядом нюансов в части хромосомных аббераций. В области сверхлетальных доз число абберантных клеток через 24 часа после облучения достигло максимума и вышло на

плато после первого митоза. В дозе 0,02 Гр продемонстрирована известная зона гиперчувствительности, а начиная с доз 0,1 Гр до 2,5 Гр, отмечается пропорциональная зависимость доза-эффект. Митотический индекс – как показатель радиационного воздействия продемонстрировал идеальный ответ доза-эффект.

В ячейке 5 отмечается прямая зависимость доза-эффект по протонному облучению, при этом число aberrантных клеток совпадало с соответствующими по дозе значениями у гамма-облученных животных. В крайних ячейках 1 и 9 выход хромосомных aberrаций превысил таковой у соответствующей дозовой группы гамма-облученных животных.

Митотический индекс у животных из ячейки 5 оказался выше, чем у гамма-облученных животных, облученных в сопоставимых дозах.

Показано повышение митотического индекса у животных, облученных в крайних ячейках – максимальное при толщине 80 см и минимальное при толщине защиты 20 см. Радиационная стимуляция митотической активности радиочувствительных клеток, сопровождающаяся повышенным выходом aberrантных клеток, логично может стать предвестником канцерогенного эффекта радиации в дальнейшем. Однако в этом направлении, безусловно, необходимы дополнительные исследования.

Таким образом, цитогенетические исследования вполне могут стать основой донозологической диагностики факта воздействия вторичного излучения, формирующегося после прохождения протонов через бетонную конструкцию.

РОЛЬ МИТОХОНДРИЙ В ГИБЕЛИ КЛЕТОК ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ С ЦИСПЛАТИНОМ И ЗОЛОТЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ

Е.Г. Гордеева, И.Н. Шейно

ФГБУ «ГНЦ Российской Федерации – ФМБЦ им. А.И. Бурназяна» ФМБА России,
Москва, Российская Федерация, gordeyevae@gmail.com

THE ROLE OF MITOCHONDRIA IN CELL DEATH UNDER THE COMBINED EFFECT OF IONIZING RADIATION WITH CISPLATIN AND GOLD NANOPARTICLES

E.G. Gordeeva, I.N. Sheino

State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russian Federation, gordeyevae@gmail.com

Инновационный терапевтический подход с использованием «тяжелых» элементов (высоким атомным номером Z) в сочетании облучением, предлагает многообещающий подход к лечению резистентных видов рака.

Радиосенсибилизирующее действие «тяжелых» элементов хорошо известно на протяжении последних двух десятилетий. Было опубликовано много исследований, с особым акцентом на использование таких элементов в виде наночастиц (НЧ) в качестве усилителей дозы облучения. Многочисленные эксперименты *in vivo* и *in vitro* показали значительное повышение эффективности в присутствии НЧ из золота ($Z_{Au} = 79$) и других элементов, но основные механизмы, приводящие к увеличению гибели клеток, все еще остаются неизвестными. Радиосенсибилизирующий эффект препаратов платины ($Z_{Pt}=78$) хорошо известен, но также не нашел своего объяснения.

Эффективность тяжелых элементов не может быть объяснена физическими явлениями, такими как увеличение поглощенной дозы облучения на микро- и наноуровне. Каскады Оже-электронов, генерируемые в наночастицах с высоким Z после облучения фотонами рассматривались как потенциальный механизм радиочувствительности НЧ. Однако преимущественная локализация НЧ цитозоле на значительном расстоянии от ядерной ДНК не позволяет объяснить эффект только прямым действием. В этой связи оценка косвенных эффектов (связанных с образованием активных форм кислорода – АФК) выходит на первый план, для понимания радиосенсибилизации «тяжелыми» элементами.

В работе на основе анализ литературных источников показана роль внеядерных мишеней (в т.ч. митохондрий, занимающих до 25% объема цитоплазмы клетки) в гибели клеток при комбинированном воздействии ионизирующих излучений с цисплатином и золотыми наночастицами.

По результатам исследования была показана ведущая роль внеядерных событий с участием митохондрий и лизосом для индукции клеточного апоптоза цисплатином. Оксидативный стресс в митохондриях играет главную роль в гибели клеток. При воздействии цисплатина на клетки злокачественных новообразований активируются сигнальные пути, приводящие к повреждению митохондрий, высвобождению АФК и апоптозу. Дополнительная продукция АФК ионизирующим излучением запускает открытие переходных пор проницаемости митохондрий и индуцирует апоптоз.

НЧ имеют тенденцию локализоваться в цитоплазме, и митохондрии, в частности, являются эффективной мишенью для облучения, учитывая их многие важные функциональные роли в клетке. Механизмами радиосенсибилизации являются выработка АФК и окислительный стресс. АФК нарушают целостность митохондрий, что приводит к запуску каскада реакций, приводящих к апоптозу.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ В ИССЛЕДОВАНИЯХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ У МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Е.Б. Григоркина

Институт экологии растений и животных УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия
e-mail: grigorkina@ipae.uran.ru

Проблема биологической эффективности малых доз ионизирующих излучений и отдаленных последствий радиационного воздействия является фундаментальной в радиобиологии и до настоящего времени остается областью активного научного поиска. Каждая зона техногенного загрязнения специфична не только по спектру, количеству радионуклидов, структуре экосистем, но и по конфигурации и размерам. Восточно-Уральский радиоактивный след – ВУРС (результат Кыштымской радиационной аварии 1957 г.) имеет специфическую конфигурацию – узкую протяженную территорию с резко падающим градиентом радиоактивного загрязнения. Это одна из главных особенностей зоны ВУРС и проблема № 1 при проведении радиоэкологического мониторинга на мелких млекопитающих. В докладе будут представлены результаты 20-ти летних непрерывных исследований, озвучены проблемы, с которыми сталкивается исследователь при проведении мониторинга на грызунах, как тест-объектах, рассмотрен методический подход для работы с однородными по функциональному состоянию животными из гетерогенных природных популяций.

В качестве экологического маркера взаимосвязи популяционных группировок зоны ВУРС и сопредельных участков рассматриваются миграционные процессы. Представлены собственные материалы (с 2002 г.) по миграциям модельных видов грызунов и насекомоядных из зоны радиоактивного загрязнения на сопредельные территории, полученные разными методами массового мечения животного населения (тетрацилин, родамин), а также ^{90}Sr (пожизненный трейсер принадлежности животного к зоне ВУРС). Охарактеризованы возможности и преимущества мечения родамином.

Миграции за счет генетического обмена оказывают влияние на формирование генофонда популяций, как в зоне загрязнения, так и за ее пределами, а также играют важную роль в развитии радиоадаптации. Роль миграций нами впервые надежно подтверждена данными, полученными с использованием молекулярно-генетических маркеров (микросателлитная ДНК и фрагмент гена цитохрома *b* митохондриальной ДНК) у грызунов.

Результаты наших исследований показали, что рецентные уровни радиоактивного загрязнения в зоне ВУРС индуцируют увеличение нестабильности локусов микросателлитной ДНК и показателей гаплотипического разнообразия у грызунов. Миграции способствуют переносу биологических эффектов на сопредельные территории. Совместное использование экологических и молекулярно-генетических маркеров следует рассматривать как важнейший шаг на пути дальнейшего развития работ в области изучения отдаленных радиационно-индуцированных генетических последствий у мелких млекопитающих в зонах локального техногенного загрязнения.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИЭРиЖ УрО РАН и частично поддержана РФФИ (проект № 20-04-00164).

РАДИОБИОЛОГИЯ НЕИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ ЗА 60 ЛЕТ: ВАЖНЕЙШИЕ ИТОГИ И АКТУАЛЬНЫЕ ЗАДАЧИ

О.А. Григорьев

АНО "Национальный исследовательский центр безопасности новых технологий",
Москва, Россия
oa.grigoriev@yandex.ru

RADIOBIOLOGY OF NON-IONIZING RADIATION FOR 60 YEARS: THE MOST IMPORTANT RESULTS AND URGENT TASKS

O.A. Grigoriev

Autonomous non-profit organization "National Research Center for the Safety of New
Technologies", Moscow, Russia
oa.grigoriev@yandex.ru

Исследования медико-биологических эффектов электромагнитного поля в нашей стране непрерывно ведутся почти 130 лет. Справедливо считать, что 60 лет назад исследования базировались на прочном теоретическом и методическом фундаменте. Исследования биоэффектов электромагнетизма стали логическим продолжением исследования роли электричества в организме, его значению в функционировании нервной системы в конце 19 века. Для перехода физиологии от электричества к электромагнетизму первостепенное значение имело последовательное формирование теории электромагнитного поля, развитие технических средств генерации и их внедрение в промышленность, быт и медицину.

Академик А.А. Ухтомский писал в 1933 м году: "Физиология и электрофизиология строились до сих пор ... на таких представлениях, которые звучат архаично... будет делом насущным пересмотреть положения электрофизиологии с точки зрения новой электромагнитной физики и учения о поле. Первоочередной задачей будет пересмотр учения о физиологическом раздражителе с точки зрения теории поля. Одним из первых камней в предстоящую работу положен В.Я. Данилевским его исследованиями над физиологическим действием электрических напряжений на расстоянии». Так задан главный вектор развития плановых научных исследований биоэффектов электромагнетизма, определивший перспективы последующих 30 лет. «Энергетическое» или «тепловое» направление в исследовании развивалось в неразрывной связи с рассмотрением электромагнитного поля в качестве раздражителя в ходе решения задача построения зависимости «доза-эффект» в диапазоне от недействующих до летальных уровней.

К началу 1960х годов представления о медико-биологических эффектах электромагнетизма кратко характеризуются следующим. При облучении электромагнитным полем во всем диапазоне частот нельзя противопоставлять или взаимно заменять тепловой и нетепловой эффект во всем диапазоне интенсивностей. Энергия поглощается в любом случае во всех тканях, в которые проникает электрический компонент поля, в зависимости от энергетического баланса можно говорить о "тепловом" эффекте. Независимо от энергии, электромагнитное поле (ЭМП) выступает как раздражитель центральной нервной системы (ЦНС), которая ответно реагирует (на раздражитель), причем особенно выражена реакция вышних отделов ЦНС, характер реакции зависит от параметров электрических колебаний: направленность реакций организма в эксперименте может быть противоположной в зависимости от способа организации сигнала (непрерывное или импульсно-модулированное). Вывод о роли ЦНС согласовывался с идеями академика И.П.

Павлова о роли нервной системы в анализе и уравнивании всех раздражителей от внешней и внутренней среды организма.

Был определен принцип показателя вредного действия - развитие компенсаторных реакций организма, которые могут перейти в патологический процесс. На этой основе обоснованы первые санитарные нормы для работающих с источниками и военных к 1960му году. Констатировалось, что разделение перехода физиологической компенсации в патологию весьма сложна, что требует исследования интегральных показателей, характеризующих общую реакцию организма на действие ЭМП и функций, чувствительных к его воздействию.

В 1960х годах научная координация исследований в масштабах страны осуществлялась Научным советом АН СССР по кибернетике, а также научным советом по проблемам биосферы и проблемными комиссиями АМН СССР.

Направление фундаментальных исследований преимущественно вели в рамках кибернетического подхода, который заключался в следующем. Реакция ЦНС на изменение параметра внешней среды (по Павлову) рассматривается как восприятие информации. Соответственно, если доказана реакция ЦНС и организма на "нетепловой" уровень, то это можно называть информационным действием электромагнитного поля. Вопрос первичного механизма восприятия был основным предметом исследований и обсуждений в условиях отсутствия данных о специализированных рецепторах и анализаторах для восприятия ЭМП, в том числе в контексте механизмов природной ориентации и регуляции поведения.

В этот период тематика плановых исследований формировалась по направлениям: биофизические механизмы; определение интенсивности, метрология, дозиметрия и организация условий облучения в эксперименте; характеристика теплового действия электромагнитного поля радиочастот, включая сверхвысокочастотные (СВЧ); влияние на сердечно-сосудистую систему, на функцию органов пищеварения, на эндокринную систему и обмен, на иммунную систему, на систему крови, на ЦНС и поведение, на репродуктивную систему. Обобщались вопросы этиологии и патогенеза функциональных и морфологических изменений.

В 1960-х годах интенсивно развивали системы связи, радио- и телевидения, технологического применения электромагнетизма. Это сформировало потребность в регламентации ЭМП для населения и работающих, не связанных с эксплуатацией источников ЭМП, дало развитие исследованиям в интересах коммунальной гигиены, подтверждение надежности предельно-допустимых уровней (ПДУ) для работающих.

Гигиеническая характеристика условий облучения стала основной как для планирования эксперимента, так и клинико-эпидемиологии. Дозиметрия обеспечивалась созданной во ВНИИФТРИ в 1960-69 годах единой системой метрологического сопровождения измерений напряженности электрического и магнитного полей, плотности потока энергии, включая систему производства средств измерения и их метрологического обеспечения, калибровки антенн и поверки средств измерений, первичные и рабочие эталоны. Это позволяет говорить о высокой достоверности данных об условиях облучения.

С 1978 года научная координация фундаментальных вопросов действия электромагнитного фактора на биологические объекты и совершенствование научной основы нормирования воздействия фактора на человека и биообъекты поручена Объединенной секции электромагнитобиологии в рамках Научных советов АН СССР по проблемам биологической физики и радиационной биологии. Координационный план "Физическая среда" стал основой для финансирования большей части исследований.

Нельзя утверждать, что качественно планируемые направления исследований отличались от прежних. В 1983 году в рамках Объединенной секции были определены очередные задачи исследований - фактически на последний плановый период. В том числе исследование механизмов действия на разных уровнях биологической интеграции; оценка значимости наблюдаемых изменений и отнесение их к реакциям восприятия или адаптивно-компенсаторным и патологическим реакциям с анализом продолжительности сохранения наступивших изменений; поиск общих закономерностей эффекта от физических параметров ЭМП; определение пороговых параметров ЭМП для биологических реакций различной значимости; исследование физических полей биообъектов.

Несмотря на стремление к координации, в 70-80 годах медико-гигиеническое и биологическое направление исследований биоэффектов электромагнетизма развивались не совместно. По распоряжению Совета Министров СССР был разработан и в 1984 году утвержден Совмином на период до 2004 года «План-график научно-исследовательских работ, направленных на разработку гигиенических и технических мероприятий, связанных с размещением передающих радиотелевизионных и радиолокационных станций». Была поставлена задача обеспечить баланс научно обоснованных санитарно-эпидемиологических требований к условиям контакта населения страны с источниками ЭМП и тенденциями промышленно-технологического развития. "Гигиенисты" находились перед необходимостью обоснования конкретных значений ПДУ в условиях ограниченного времени, обусловленного планами развития промышленности и связи. Решающее значение имело математическое и экспериментальное моделирование эксперимента, разработка методов математического прогноза в определении ПДУ на основе ограниченных экспериментальных данных. Нерешенную проблему механизма обошли рассматривая в эксперименте организм как «черный ящик», определяя методологию как кибернетический подход. Исходили из того, что влияние ЭМП проявляется на субклеточном, клеточном уровне, на уровне органов и систем, на уровне организма в целом, при повышении сложности организма возрастает чувствительность к электромагнитной энергии. Академик М.Г. Шандала обосновал понятие об оптимуме ЭМП обстановки - избыточные значения ЭМП и искусственная изоляция от природного комплекса факторов электромагнетизма действуют неблагоприятно на организм. По его мнению, точно определить значение последствий воздействия ЭМП на организм весьма трудно, часто из-за сложностей взаимодействия между электромагнитной энергией и здоровьем человека, недостатка знаний о факторе и механизмах его действия.

На наш взгляд, это очень важный тезис и сегодня: никогда не прекращалась дискуссия о природе электромагнетизма, его физической основе, о существовании "эфира" или эквивалентного физического понятия. Относительность представлений о природе электромагнитного фактора допускает относительность знания о его взаимодействии с живыми объектами, тем более, что знание о живом тоже нельзя считать полным.

Начиная с 1990х годов трудно переоценить значение Научного совета РАН по радиобиологии и непосредственно заместителя Председателя Совета профессора Ю.Г. Григорьева для координации исследований и консолидации ученых. После 1995 года усилиями Совета проведены конференции по радиобиологии и гигиене неионизирующих излучений, в том числе совместно с Всемирной организацией здравоохранения и с Российским национальным комитетом по защите от неионизирующих излучений.

Важным является ряд обобщений, выполненных коллегами в эти годы, в том числе развивающих проблематику "дозного" подхода, являющегося основным в

радиобиологии ионизирующих излучений, но проблемным для радиобиологии неионизирующих излучений.

Данные радиобиологических исследований, в которых использовали сложные режимы облучения, позволяют считать, что ЭМП СВЧ со средними значениями ППЭ ≤ 500 мкВт/см² (в непрерывном режиме или в импульсе) необходимо рассматривать как раздражитель центральной нервной системы. Поэтому справедливо применять законы физиологии о биологической силе, адапционном ответе и путях усиления биологической значимости слабого раздражителя.

Обобщение экспериментальных данных о количественных показателях микроволнового поражения показало особенность реакции ЦНС на импульсное СВЧ-излучение при оценке по порогам равнозначных биологических реакций (н-р, скорость угасания условных рефлексов, скорость формирования реакции избегания и т.д.): импульсное облучение биологически в 25-100 раз более эффективно по сравнению с непрерывным облучением по оценке средней мощности в импульсе. Была доказана экспериментально и по эпидемиологическим данным и обратная зависимость: при равной суммарной мощности облучения воздействие импульсом приводит к более тяжелым биологическим и клиническим последствиям по сравнению с непрерывным облучением.

После 2000х сотовая связь стала массовым продуктом и электромагнитный фактор превратился в популяционно значимый. На основе фундаментальных представлений о медико-биологических эффектах электромагнетизма, исходя из принципиальных изменений условий облучения населения и недостаточности научных данных о последствиях облучения головного мозга в неконтролируемых условиях во всех группах населения, включая детей, в период 2000-2008 годов были обоснованы прогнозы возможного роста заболеваемости в связи с облучением ЭМП сотовой связи. Это злокачественные новообразования (в том числе опухоли в головном мозге, в том числе в слуховом нерве), болезни и функциональные расстройства нервной системы, включая провокацию эпилептической готовности, заболевания, связанные с нарушением иммунного статуса.

По современным данным Росстат фиксируют рост заболеваемости за 25 лет по прогнозным группам болезней в популяции подростков 15-17 лет (злокачественные опухоли, болезни нервной системы, нарушение иммунного статуса, болезни органа слуха и зрения). Данные фундаментальных исследований, а также оценка возможного вклада электромагнитного поля сотовой связи в рост заболеваемости, выполненная на основе методологии IARC, показывает, что обусловленность роста заболеваемости влиянием электромагнитного поля скорее достоверно существует, чем является случайным совпадением. Однако непосредственное определение риска затруднено в связи с неопределенностью данных дозиметрии, отсутствием современных групп сравнения и неразработанностью концепции приемлемого риска для массовой технологии сотовой связи.

Вопрос обусловленности прироста заболеваемости облучением электромагнитным полем оборудования сотовой связи является ключевым. Одновременное облучение ЭМП разных стандартов связи ведет к разным индивидуальным способам организации облучения, что значимо для биоэффекта и последующей их кумуляции при повторном действии, возможно, это указывает на путь к компенсаторным реакциям и к развитию заболеваний. Для новых условий облучения у нас практически не существует дозиметрии как для ближней, так и дальней зоны. Требуется национальное программное обеспечение расчетного прогнозирования падающей и поглощенной электромагнитной энергии, в том числе необходим национальный цифровой "электромагнитный" фантом (детский и взрослый).

Международное агентство по раку (IARC) присвоило класс 2Б ЭМП радиочастот в 2011 году, а в 2019 году внесло фактор в список наивысших приоритетов. Впервые механизм "окислительного стресса" признан основным для увеличения вероятности новообразований. В нашей стране нет собственных данных по теме "ЭМП радиочастот и новообразования", учитываемых IARC, хотя уже известное количество учтенных опухолей в детском контингенте позволяет провести анализ «случай-контроль».

В связи с развитием стандартов связи 4-6 поколений наиболее важно следующее: оценка действия на поверхностные ткани; возможность локальных повреждений мозга в связи с реализацией механизма поглощения "мощного импульсного микроволнового излучения в микросекундном диапазоне длительности импульса"; влияние импульсных сигналов на рост меланомы.

Число отдельных публикаций по тематике радиобиологии и гигиены неионизирующих излучений на русском языке давно превысило символическую цифру 10000 и сегодня еще большую актуальность приобретают слова Б.И. Давыдова и его коллег (1984): "требуется периодическая систематизация накопленного материала, установление единой терминологии, стандартизации методов исследований и анализа полученных данных».

ПРЕДПОСЕВНОЕ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЕ СЕМЯН КАК ФАКТОР, СТИМУЛИРУЮЩИЙ РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ В СОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ

Э.С. Джафаров

Институт радиационных проблем Министерства науки и образования, Баку,
Азербайджан, elimkhan.jafarov@gmail.com

PRE-SOWING GAMMA IRRADIATION OF SEEDS AS A FACTOR STIMULATING THE DEVELOPMENT OF PLANTS IN SALT CONDITIONS

Jafarov Elimkhan Suleyman

Institute of Radiation Problems of the Ministry of Science and Education, Baku,
Azerbaijan, elimkhan.jafarov@gmail.com

Учитывая, что большинство сельскохозяйственных растений чувствительны к солевому стрессу, можно считать, что высокая засоленность является одним из самых «жестоким» абиотических факторов окружающей среды. Считается, что если не принять срочных мер, то в середине XXI века засолится примерно 50% сельскохозяйственных угодий [1]. Принимая во внимание, что засоление почв представляет собой большую угрозу как для роста и развития, так и продуктивности сельскохозяйственных растений, в последние годы предпринимаются попытки снизить ее негативное влияние. Среди этих попыток определенное значение придается использованию γ -облучения.

Отмечается, что до настоящего времени большинство попыток и проведенных исследований по повышению солеустойчивости растений, улучшению их морфогенетических возможностей и физиологических характеристик за счет использования γ -облучения в качестве физического мутагена не имели серьезного характера [2]. Кроме того, несмотря на многочисленные данные о том, что избыток соли может вызывать серьезные метаболические изменения в растительных клетках [3], до сих пор не удалось получить желаемых результатов по изучению механизмов приспособления растений к условиям повышенной засоленности и о роли радиационного фактора в этом процессе.

Целью наших исследования явилось выяснение роли γ -обработки семян перед посевом в адаптации растений к условиям высокого засоления и изучение при этом деталей механизмов адаптации. В качестве объектов исследования были выбраны горох (*Cicer arietinum* L.) и кукуруза (*Zea mays*). Использовались местные сорта гороха «Угунана» и кукурузы сорта «Загатала 68».

В работе изучено влияние радиоактивного излучения в широком диапазоне доз на рост и развитие этих растений, выращенных в условиях солевого стресса различной концентрации, на ход реакций перекисного окисления липидов, на интенсивность процесса фотосинтеза, на содержание белка и на активность системы антиоксидантной защиты в условиях двойного (радиационного и солевого) стресса. Активность системы антиоксидантной защиты растений оценена на основе количественных изменений содержания низкомолекулярных антиоксидантов, таких как пролин, антоцианы, флавоноиды, каротиноиды, и на основе изменений активности антиоксидантов: супероксиддисмутазы - СОД, аскорбатпероксидазы - АПО и каталазы - КАТ.

1. Влияние в отдельности предпосевного γ -облучения семян и солевого стресса на развитие растений.

На рис 1. показано влияние радиационного и солевого стрессов на развитие растений гороха (1 и 2) и кукурузы (3 и 4).

Из рис. 1 видно, что γ -облучение в диапазоне малых доз не оказывает действие, порой оказывает определенное стимулирующее действие на развитие гороха, в средних

дозах, наоборот, увеличение дозы облучения приводит к замедлению роста и развития, а в больших

дозах полностью останавливает развитие этого растения.

Аналогичная зависимость от дозы облучения наблюдается и для кукурузы. При этом дозы облучения, равные 1 и 5 Гр, оказывают стимулирующее действие на развитие растения, а дозы 100 Гр и более, наоборот, ингибирующие. Отличие состоит в том, что если для гороха ингибирующая доза начинается с 10 Гр, то для кукурузы она начинается со 100 Гр. Кроме того, кукуруза даже при высоких дозах может расти медленно. Эти результаты свидетельствуют о том, что исследуемые растения обладают разной чувствительностью к воздействию ионизирующего излучения.

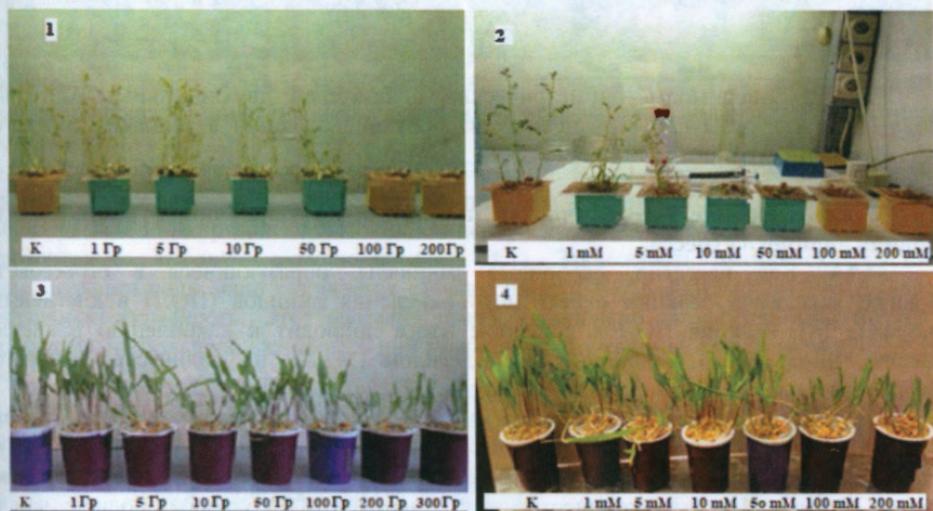


Рис.1. Влияние радиационного (1,3) и солевого (2,4) стресса на развитие растений.

Результаты по влиянию солевого стресса на развитие растений гороха показывают, что даже самая низкая (1мМ) концентрация соли значительно замедляет развитие этого растения. Обострение солевого стресса усугубляет этот эффект, и при концентрациях выше 50мМ развитие растения полностью прекращается. Можно сделать вывод о том, что влияние солевого стресса на развитие гороха более драматично, чем влияние радиации.

Влияние солевого стресса на развитие кукурузы также проявляется в задержке развития растения. Однако в этом случае замедление не такое масштабное, как у гороха, и даже при концентрациях выше 50мМ растение может слабо расти.

И так, можно прийти к выводу о том, что кукуруза по сравнению с горохом проявляет более высокую устойчивость как к действию ионизирующего излучения, так и солевого стресса. Предполагаем, причиной этого является высокая способность кукурузы использовать внутренний потенциал антиоксидантной защиты.

2. Влияние предпосевного γ -облучения семян на развитие растений в условиях солевого стресса.

Поскольку в условиях двойного стресса эффект был более заметным при дозе облучения 50 Гр, мы удовлетворились представлением результатов только при этой дозе.

Представленные выше результаты показали, что в отдельности радиоактивное излучение в больших дозах, а NaCl в высоких концентрациях замедляет развитие этих

растений. Однако, как видно из рис. 2, облучение семян в дозе 50 Гр, стимулирует развитие растений даже при высоких концентрациях соли.

Исходя из этих результатов предполагаем, что ионизирующее излучение может в некоторой степени смягчить негативное действие солевого стресса.

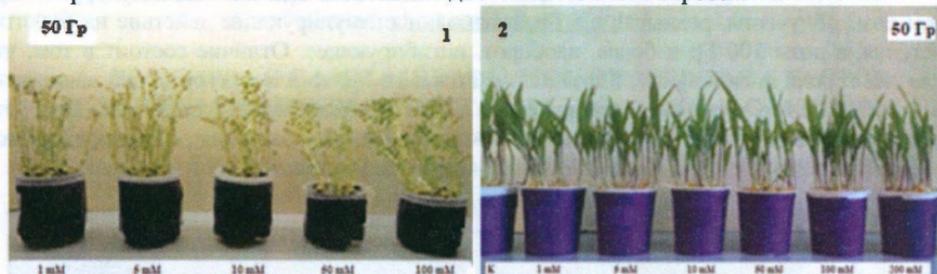


Рис. 2. Зависимость биометрических показателей двухнедельных растений гороха (1) и кукурузы (2), выращенных из облученных семян в условиях солевого стресса, от концентрации соли.

3. Исследование биохимических процессов, протекающих в растениях, в условиях двойного стресса.

МДА. Как известно, свободные радикалы, образующиеся в стрессовых условиях, вызывают реакции перекисного окисления липидов (ПОЛ) в клеточных мембранах [4]. Реакция ПОЛ в конечном итоге приводит к накоплению в клетке вещества, называемого малоновым диальдегидом (МДА), по количеству которого можно судить о степени повреждения мембран [5].

Результаты зависимости количества МДА от концентрации NaCl в клетках растений, семена которых были обработаны γ -лучами в дозе 50 Гр и выращены в солевой среде (рис. 3.1), показывают, что количество МДА увеличивается с усилением солевого стресса. При этом количественные изменения МДА у гороха больше, чем у кукурузы. Кроме того, увеличение содержания МДА для гороха происходит при низких концентрациях (выше 1 мМ), а для кукурузы при относительно высоких концентрациях соли (выше 10 мМ)

Пролин. Известно, что пролин, как антиоксидант, может играть определенную роль в защите клеток от стресса [6]. Результаты относительно количества пролина в условиях двойного стресса (рис. 3.2) показывают, что обработка семян γ -лучами при концентрациях соли до 1 мМ не влияет на синтез пролина. Однако при концентрациях выше 1 мМ усиление солевого стресса сопровождается масштабным увеличением его количества. Интересно, что форма зависимости у обоих растений одинакова.

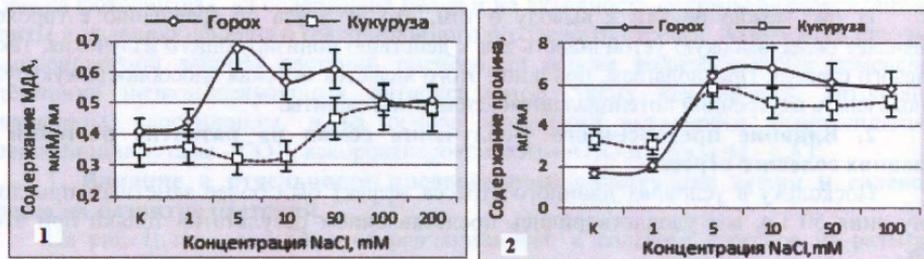


Рис. 3. Зависимость содержания МДА и пролина от концентрации соли

Каротиноиды. Выяснилось, что обработка семян γ -лучами перед посевом приводит также к стимуляции синтеза каротиноидов.

Антоцианы и флавоноиды. Существенных количественных изменений для этих пигментов при низких концентрациях солей не зафиксировано, а при высоких концентрациях солей наблюдалась тенденция к незначительному уменьшению. Точнее снижение количества антоцианов и флавоноидов наблюдалась на фоне увеличения количества каротиноидов.

Хл. а и Хл. б. Результаты показали, что синтез хлорофилла чувствителен к воздействию как радиоактивного излучения, так и солевого стресса у обоих растений. Получено, что проростки гороха, семена которых подверглись облучению, синтезировали хлорофилл даже в высококонцентрированном солевом растворе, то у кукурузы в таких условиях синтез хлорофилла практически полностью прекращались.

Общий белок. При двойном стрессе наблюдалась тенденция снижения количества общего белка с увеличением концентрации соли. При этом в условиях низкой солености снижение незначительно, а при высокой солености относительно велико.

Антиоксидантные ферменты (СОД, АПО, КАТ). Показано, что при низких концентрациях усиление солевого стресса приводит к увеличению активности СОД для обоих растений. А при более высоких концентрациях соли фермент все еще проявляет сравнительно высокую активность (рис. 4.1). Зависимость активности КАТ от концентрации соли мало отличается от зависимости СОД. АПО при этом проявляет различную активность. Этот фермент имеет небольшую активность при низких и относительно большую активность при высоких концентрациях соли (рис. 4.2).

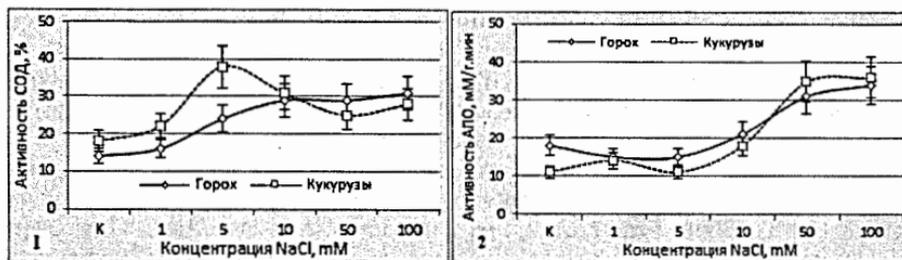


Рис. 4. Зависимость активности СОД и АПО от концентрации соли

Основываясь на эти результаты, можно прийти к выводу о том, что как низкомолекулярные, так и высокомолекулярные антиоксиданты могут действовать согласованно друг с другом при защите растений от стрессовых состояний.

Список литературы

1. Mahajan S., Tuteja N. Cold, salinity and drought stresses: an overview // Archives of Biochemistry and Biophysics. -2005. -V.444. -P.139-158.
2. Helaly M.N.M. and A.M.R. Hanan El-Hosieny. Effectiveness of Gamma Irradiated Protoplasts on Improving Salt Tolerance of Lemon (*Citrus limon* L. Burm.f.) // American Journal of Plant Physiology. - 2011. -V. 6. -№ 4. -P. 190-208.
3. Sharma P., Jha A. B., Dubey Sh., Pessarakli M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions // Journal of Botany, - 2012. -V.1, - P. 1- 26.

4. *Khan M.H., Panda S.K.* Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress // *Acta Physiol Plant.* -2008. -V. 30, -P. 91-89.

5. *Miller G., Suzuki N., Ciftci-Yilmaz S., Mittler R.* Reactive oxygen species homeostasis and signaling during drought and salinity stresses // *Plant Cell Environ.* -2010. -V.33. -№ 4. -P 453-467.

6. *Радюкина Н.Л., Шашукова А.В., Макарова С.С., Кузнецов Вл. В.* Экзогенный пролин модифицирует дифференциальную экспрессию генов супероксиддисмутазы в растениях шалфея // *Физиология растений*, - 2011. -Т.58. -№ 1. – С. 49-57.

РАДИОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ПОПУЛЯЦИИ ОПУХОЛЕВЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК: МЕХАНИЗМЫ, СПОСОБЫ ПРЕОДОЛЕНИЯ И КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

И.А. Замулаева^{1,2}

¹ Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Обнинск, Россия

² Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия
zamuлаeva@mail.ru

Впервые существование опухолевых стволовых клеток (ОСК) было доказано более 20 лет тому назад: в 1997 г. при остром миелоидном лейкозе, в 2003 г. при раке молочной железы, хотя предположения о наличии этой клеточной популяции появились намного раньше. После обнаружения ОСК в солидных опухолях довольно быстро выяснилось, что эти клетки обладают устойчивостью к воздействию редкоионизирующего излучения и традиционных химиопрепаратов. Поэтому появилось предположение, что именно ОСК могут сохраняться после лечения и быть причиной появления рецидивов заболевания даже спустя годы лечения. Эти факты и предположения обусловили всплеск интереса к выяснению закономерностей и механизмов резистентности ОСК к противоопухолевым воздействиям в экспериментальных условиях и, как следствие, к разработке способов элиминации ОСК и/или повышения их чувствительности к радио- и химиотерапии. С другой стороны, была сделана попытка транслировать эти результаты в клинику с целью выявить прогностическое значение ОСК и применить эти знания на практике для совершенствования методов лечения онкологических больных.

В последнее время во всем мире отмечается неуклонный рост количества публикаций, посвященных исследованию ОСК, несмотря на объективные сложности, включая, прежде всего, отсутствие универсального метода или единого маркера для идентификации ОСК разных локализаций. Выяснилось, что популяция ОСК представляет гетерогенную группу клеток с различными молекулярными и функциональными характеристиками, поэтому разные методы могут выявлять разные подгруппы ОСК. Кроме того, стало понятно, что популяция ОСК находится в динамическом равновесии с остальными опухолевыми клетками, которые могут дедифференцироваться и пополнять пул ОСК. В то же время ОСК подвергаются ассимметричному делению и одна из дочерних клеток переходит в основной пул дифференцированных клеток. Фактически, все существующие методы позволяют выделять только фракции клеток, обогащенные ОСК (в том числе из-за постоянных процессов дифференцировки-дедифференцировки). И, наконец, за редким исключением ОСК составляют лишь очень малую часть опухолевой массы (обычно от 0,01 до 5%), что вносит дополнительные технологические сложности. Тем не менее, к настоящему времени ОСК обнаружены в стабильных клеточных линиях и злокачественных опухолях разных локализаций, в том числе рак молочной железы, легкого, головы-шеи, пищевода, печени, прямой кишки, поджелудочной железы, предстательной железы, эндометрия, яичника, кожи (меланома), глиома, медуллобластома и др.), как показано многочисленными авторами с помощью методов проточной цитофлуориметрии и сортировки, магнитной иммуносепарации, культивирования в специальных условиях для формирования сфероидов, селекции по устойчивости к противоопухолевым препаратам или облучению и ксенотрансплантации в организм иммунодефицитных мышей.

Широкий спектр злокачественных новообразований, для которых было доказано наличие ОСК, и потенциальная роль этих клеток в реализации эффектов лучевой и комбинированной терапии определили значительный интерес радиобиологов к изучению популяции ОСК в различных аспектах. В частности, наши исследования были направлены на решение следующих задач: выяснение закономерностей и механизмов воздействия ионизирующих излучений разных типов на ОСК в условиях *in vitro* и *in vivo*, разработка на этой основе новых средств и способов элиминации ОСК, оценка прогностического значения популяции ОСК в отношении эффективности лечения онкологических больных. Объектами исследования являлись стабильные линии опухолевых клеток, а также злокачественные опухоли экспериментальных животных и человека в ходе лучевой терапии.

На первых этапах работы нами были получены результаты, подтверждающие данные литературы о более высокой резистентности ОСК к однократному воздействию редкоизионизирующего излучения по сравнению с остальной массой клеток стабильных линий рака молочной железы, шейки матки и меланомы *in vitro*. В частности, предварительно отсортированные ОСК продемонстрировали более высокую клоногенную выживаемость, чем остальные клетки после γ -облучения (например, в случае меланомы зарегистрированы почти двухкратные различия по величине D_{010} для ОСК и остальных клеток, $p < 0,05$). При облучении несортированных клеточных культур наблюдалось статистически значимое увеличение относительного и абсолютного количества ОСК с повышением дозы облучения примерно до 7-10 Гр, после чего количество ОСК выходило на плато или начинало уменьшаться. Это является хорошим аргументом в пользу использования крупных фракций дозы при стереотаксической лучевой терапии в дополнение к другим весомым аргументам. Затем были установлены закономерности влияния γ -излучения в режиме фракционирования дозы на популяцию ОСК *in vitro* и *in vivo*, причем на примере мышиной меланомы линии В16 показан существенно более высокий выход ОСК на единицу дозы в первом случае. Как и следовало ожидать, фракционированное γ -облучение (по сравнению с однократным) оказывало менее эффективное действие на общую популяцию опухолевых клеток, но при этом примерно одинаково влияло на размер популяции ОСК. И в случае однократного, и в случае фракционированного облучения количественные изменения популяции ОСК коррелировали с радиационной индукцией процесса эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП), который оценивали по экспрессии белка виментин и мРНК ряда генов, контролирующих и/или маркирующих этот процесс. Причем указанная закономерность наблюдалась не только при облучении клеточных культур *in vitro*, но и в ходе лечения онкологических больных, как показано нами на примере рака шейки матки. Важно, что при ингибировании ЭМП в экспериментальных условиях пострадиационного увеличения популяции ОСК не наблюдалось.

Среди механизмов резистентности ОСК к редкоизионизирующему излучению, которые были установлены нами и другими авторами, следует отметить низкую пролиферативную активность; особенности структурной организации хроматина и регуляции активных форм кислорода, приводящие к относительно низкому количеству первичных радиационно-индуцированных повреждений ДНК; высокую эффективность пострадиационной репарации двунитовых разрывов ДНК; высокий уровень радиационно-индуцированной экспрессии белков теплового шока (БТШ27 и БТШ70) в этих клетках и др. Исходя из механизмов радиорезистентности ОСК, мы предположили и протестировали ряд способов/средств элиминации ОСК или повышения их чувствительности к радиационным воздействиям. На рисунке показаны успешные

варианты воздействий, продемонстрировавшие свою эффективность в условиях *in vitro* и/или *in vivo*.



Рисунок. Способы/средства элиминации ОСК или повышения их чувствительности к радиационным воздействиям

В рамках решения третьей задачи нашей работы оценивалось прогностическое значение ОСК при стандартной радиотерапии или комбинированном химиолучевом лечении больных раком верхних дыхательных путей и шейки матки. Материалом для исследования являлся биопсийный материал опухоли или соскобы с шейки матки, соответственно. Показано, что повышение доли ОСК после облучения в суммарной очаговой дозе (СОД) 10Гр является фактором неблагоприятного прогноза ближайших результатов лечения указанных заболеваний (степени регрессии опухолей в ходе или по завершении лучевой терапии) (таблица), при этом исходное количество ОСК до лечения не имеет прогностического значения.

Таблица. Результаты множественного регрессионного анализа зависимости степени регрессии первичного очага от пострадиационных изменений доли ОСК и клинико-морфологических показателей

Показатели (предикторы)	Beta	Величина r для предиктора	R	Величина r для модели в целом
<i>Рак шейки матки, n=55</i>				
Радиационный ответ (повышение доли) ОСК на облучение в СОД 10Гр	-0,37	0,02	0,60	<0,002
Стадия заболевания (FIGO)	-0,46	0,01		
<i>Рак верхних дыхательных путей (в основном, гортани), n=53</i>				
Радиационный ответ (повышение доли) ОСК на облучение в СОД 10Гр	-0,36	0,02	0,47	0,03
Стадия заболевания (T по системе TNM)	-0,25	0,10		
Гистологический тип опухоли	0,19	0,22		

Примечание: Beta - стандартизированный угловой коэффициент регрессии (в единицах SD), R - коэффициент множественной корреляции.

Более того, в группе больных раком верхних дыхательных путей установлено прогностическое значение радиационного ответа ОСК в отношении долговременных результатов лечения (5-летней безрецидивной выживаемости). Так при существенном повышении доли ОСК (более чем на 2,5%) после облучения в СОД 10 Гр безрецидивная выживаемость больных составляла только 45% в конце периода наблюдения, а при уменьшении или незначительном изменении доли ОСК – 80% ($p < 0,05$). Чувствительность этого метода прогнозирования отдаленных результатов лечения составляет 0,67 (95% ДИ 0.35-0.88), специфичность 0,71 (95% ДИ 0.50-0.86). Таким образом, существенное повышение доли ОСК в начале радиотерапии является неблагоприятным прогностическим признаком.

Выводы:

1. ОСК обладают более высокой резистентностью к действию редкоизирующего излучения по сравнению с остальной массой опухолевых клеток, как показывают результаты собственных исследований и данные литературы;
2. Разработка новых противоопухолевых средств и способов должна производиться с учетом чувствительности к ним популяции ОСК и на основе молекулярно-клеточных особенностей ОСК;
3. Использование пучков протонов, нейтронов, ионов ^{12}C и фотодинамического воздействия одинаково эффективно в отношении опухолевых стволовых и не стволовых клеток *in vitro*;
4. В последние годы наметился прорыв в разработке средств направленного воздействия на популяцию ОСК, в том числе средств, повышающих радиочувствительность этих клеток и блокирующих радиационно-индуцированный ЭМП;
5. Реакция пула ОСК на радиационное воздействие в СОД 10Гр в ходе радиотерапии или комбинированного лечения больных раком верхних дыхательных путей и шейки матки имеет прогностическое значение.

Автор выражает благодарность сотрудникам отдела радиационной биохимии МРНЦ им. А.Ф. Цыба к.б.н. Матчук О.Н. и к.б.н. Селивановой Е.И., выполнивших основную часть работы по исследованию радиобиологических свойств ОСК, сотрудникам отдела радиационной биофизики, на базе которого проводилось гамма-, нейтронное и протонное облучение клеточных культур и животных, а также сотрудникам клинического сектора МРНЦ им. А.Ф. Цыба, предоставивших материал для исследования и данные об эффективности лечения больных.

**КОМПЛЕКСНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ФАКТОРА НА
АДАПТАЦИЮ КОСМОНАВТОВ К СТРЕССОВЫМ ФАКТОРАМ
КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА И БЕЗОПАСНОСТЬ ПОЛЕТА**

И.Б. Корзенева¹

¹Российский федеральный ядерный центр - Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики (РФЯЦ-ВНИИЭФ), Саров

**COMPREHENSIVE DETERMINING OF THE HUMAN-FACTOR ASPECT
EFFECTS ON CAUSMONAUTS' ADAPTATION TO STRESS FACTORS OF SPACE
FLIGHTS AND AEROSPACE SAFETY**

Inna B. Korzeneva

Russian Federal Nuclear Center – All-Russian Research Institute of Experimental Physics (RFNC-VNIIEF) 607190 Sarov, 37 Mira ave., Nizhny Novgorod Region, Russia

Corresponding author:

Inna B. Korzeneva, PhD,

Russian Federal Nuclear Center – All-Russian Research Institute of Experimental Physics (RFNC-VNIIEF),

Radiation Safety Department,

Head of the Radiation and Epidemiological Register,

37 Mira ave., 607190 Sarov, Nizhny Novgorod Region, Russia

Tel.: +7 (83130) 2-98-92, +7 (910) 397-12-18

E-mail: inna.korzeneva@molgen.vniief.ru

Разработка научно-обоснованной системы подбора членов космического экипажа, основанной на максимально возможной психологической устойчивости к стрессовым воздействиям факторов космического полета, является одной из самых серьезных медицинских проблем длительных пилотируемых полетов, например, к Марсу (*Хачатурьянц и др., 1976; Бобков и др., 1964*). В этих условиях чрезвычайно важна оперативная классификация кандидатов в члены космического экипажа как по молекулярным, так и психофизиологическим критериям и выделение среди кандидатов групп риска по пониженной психологической устойчивости и проявлению неадекватных поведенческих реакций наравне с группами риска по повышенной радиочувствительности (*Лушиников, Абросимов, 2012*).

В условиях длительного космического полета из-за длительно неменяющейся окружающей обстановки, недостатка слуховых, тактильных, зрительных и других раздражителей резко уменьшается приток информации – нервных импульсов – в центральную нервную систему (ЦНС) космонавта (*Корочкин, Михайлов, 2000*). Поскольку для нормального функционирования физиологических систем организма человека необходим определенный минимум импульсов, ниже которого возможны нарушения и даже психические расстройства, при длительных космических полетах остро встают вопросы поведения и психологии человека в условиях замкнутого пространства, неизменности обстановки, ограниченности круга общения и т.д. (*Медведев, 1982; Немчин, 1983; Бодров, 2001*). Исключительно важны сведения об индивидуальных психофизиологических особенностях кандидатов в космонавты для решения вопросов индивидуального управления мышечной деятельностью и регуляции движения в экстремальных условиях (*Зорина и др., 2002*). Недостаточная проработанность личностных психологических и когнитивных особенностей членов экипажа может привести, в конечном итоге, к стойким нарушениям в функционировании физиологических систем организма – нервной, сердечно-

сосудистой, двигательной, желудочно-кишечной, эндокринной. Это заметно снизит работоспособность и надежность космонавтов (*Хачатурьянц и др., 1976*). Кроме того, осознание космонавтами постоянного воздействия на них ионизирующего излучения (ИИ) – высокоэнергетичных компонентов галактического космического излучения (ГКЛ), излучения радиационных поясов Земли (РПЗ) и солнечных космических лучей (СКЛ) (*Григорьев, 1975*) также является стрессовым фактором, оказывающим свое дестабилизирующее действие на ЦНС (*Лившиц, 1961; Тодоров И., Тодоров Г., 2003*).

Таким образом, изучение психологических особенностей человека, надежности его нервной системы и эмоционального состояния в различных условиях деятельности, приближенных по характеристикам к условиям космического корабля, имеет огромное значение, т.к. от устойчивости нервной и нейро-гуморальной регуляции будет зависеть поддержание нормальных пространственно-временных связей и физиологических функций организма космонавта. Особенно важно получение сведений о генетически детерминированных психофизиологических качествах и о модифицирующем действии на них конкретных особенностей профессиональной деятельности на этапе входного тестирования кандидатов в члены космических экипажей (*Корочкин, Михайлов, 2000; Зорина и др., 2002; Григорьев, 1991; Изард, 1999*).

В докладе представлены результаты исследований, выполненных на четырех когортах лиц, работающих в условиях хронического воздействия ИИ на объекте использования атомной энергии (ОИАЭ), но различающихся по характеру деятельности: персонал исследовательских ядерных реакторов (Р-когорта), производственных персонал (П-когорта) и исследовательский персонал ОИАЭ (И-когорта). В контрольную когорту были включены лица, не контактирующие с ИИ на производстве (К-когорта). Для условий работы каждой из обследованных когорт в различной степени характерны черты, аналогичные условиям работы космонавтов (и в этом смысле эти условия можно использовать как наземные аналоги космического полета) – необходимость в постоянной психологической готовности к реагированию на внештатные ситуации в состоянии неопределенности и высокого риска, в сложных бытовых условиях экспедиции, длящейся несколько месяцев; в тщательности, внимательности, постоянной собранности, высокой дисциплинированности и строгой согласованности коллективных действий; необходимость постоянно строго контролировать свои эмоциональные проявления и сдерживать агрессивные реакции.

Лица, включенные в обследованные когорты, были подвергнуты психологическому тестированию при помощи следующих методов: диагностика самооценки тревожности Спилбергера-Ханиной (*Райгородский, 2001; Батаршев, 2002*), диагностика уровня невротизации Вассермана (*Карелин, 2007*), диагностика агрессивности Басса-Дарки (*Карелин, 2007*), диагностика темперамента, нейротизма, психотизма, экстра- и интроверсии Айзенка–ЕРІ (в адаптации Шмелева-Суходольского-Попова) (*Райгородский, 2001; Суходольский, 2004; Глуханюк, 2003*) и методика изучения типа нервной деятельности Стреляу (*Райгородский, 2001*). Генотипирование проведено по 21 гену (AB0, RhD, RhC, Rhc, Kell, MN, ACP, EsD, PGM, 6-PGD, GLO1, Tf, Gc, Hp, GSTT1, GSTM1, GSTP1, CSF1PO, F13A01, TPOX, TH01) с использованием стандартных молекулярно-генетических методик.

Среди обследованных когорт выявлены достоверные различия по 13 психологическим (Ψ) показателям из 18 проанализированных. При этом ряд ключевых показателей статистически значимо различается между всеми четырьмя когортами (К-, Р-, П-, И-): показатели тревожности, агрессии и экстраверсии. Наибольшими значениями психологических показателей характеризуется И-когорта (7 из 13

показателей). Результаты множественного регрессионного анализа показали значимую зависимость перечисленных Ψ -показателей от конкретного характера работ и возраста, при этом с возрастом значимо снижаются во всех когортах только физическая агрессия и индекс враждебности (отрицательная корреляция), остальные увеличиваются с возрастом. Таким образом, показано, что в обследованных когортах особенности работы сформировали характерный для каждой из когорт психотип сотрудников.

Генетический анализ выявил значимую зависимость восьми (8) Ψ -показателей от полиморфизмов по следующим генам и локусам ДНК: *невротизация* – ген GSTP1; *ситуативная тревожность* – гены MN, ACP; *возбуждение* – ген ACP; *физическая агрессия* – локусы TPOX и ген ACP; *вербальная агрессия* – локус CSF1PO; *негативизм* – локус CSF1PO и *подозрительность* – локус TPOX. Это описывает комплекс адаптивных генотипов, носительство которых позволяет длительно (в течение нескольких десятков лет) работать в конкретных условиях.

Кроме того, в докладе представлены результаты исследований двух ключевых психолого-социологических показателей, оценка которых чрезвычайно важна для прогноза влияния человеческого фактора на адаптацию космонавтов к стрессовым факторам космического полета и безопасность полета: *типа организационной культуры и уровня культуры безопасности.*

Под **типом организационной культуры** понимается определенная группа культур, объединенных по общему, наиболее существенному признаку, отличающему данный тип от других.

Существует достаточно много систем классификации типов организационной культуры. Самый ранний подход к трактовке организации в современную эпоху базировался на работе немецкого социолога Макса Вебера, который изучал европейские правительственные организации 1800-х гг. Затем появилась теоретическая модель под названием «Рамочная конструкция конкурирующих ценностей». На сегодняшний день широко известны типологии У. Оучи; К.С. Камерон и Р.Э. Куинна; Т.Е. Дилла и А.А. Кеннеди; Р. Акоффа; Р. Харрисона, О.С. Виханского и А.И. Наумова; Е.М. Бортника, Э.М. Короткова и А.Ю. Никитаевой; И.Д. Ладанова и др.

Культура безопасности – квалификационная и психологическая **подготовленность всех лиц**, при которой обеспечение безопасности является приоритетной целью и внутренней потребностью, приводящей к самосознанию ответственности и самоконтролю при выполнении всех работ, влияющих на безопасность (Доклад МКГЯБ № 75-INSAG-4, 1991). **Ключевым элементом КБ является психология безопасности** (INSAG-3, INSAG-4, INSAG-15).

КБ сама по себе является подмножеством культуры всей организации (экипажа) в целом, т.е. организационной культуры (*Развитие культуры безопасности в ядерной деятельности, МАГАТЭ, 1998*). Недостатки организационной культуры приводят к ошибочным решениям и действиям (аварии на Three Mile Island, 1979, ЧАЭС, 1986 и Davis-Besse, 2002) (*Принципы высокой культуры ядерной безопасности, INPO, 2004*).

Иными словами, КБ – это такая культура организации (ОК), при которой становится возможным безопасное функционирование этой организации (экипажа). КБ – психолого-социологическое понятие, отражающее готовность персонала сознательно выполнять требования безопасности, частный случай ОК.

Для оценки типов ОК и уровней КБ авторами доклада проведен комплекс плановых исследований в 21 структурном подразделении 5-ти организаций. Общая численность обследованных – 800 чел., результаты отражены в отчетах о НИР,

методиках, методических указаниях и программном продукте (Корзенева, Грабский и др., 2014; Корзенева, Журавлева и др., 2015; Корзенева, Корзенов и др., 2017), опубликованы в 9-ти статьях и докладах (Корзенева, 2018; Корзенева, Грабский, 2011; Корзенева, Порфирьева и др., 2013; Korzeneva, Porfirieva, 2013; Корзенева и др., 2011-2014). В результате выполнена валидация методики.

Таким образом, данные, полученные на когортах лиц, работающих в условиях, по ряду характеристик приближенных к условиям, в которых выполняет свою работу космический экипаж, позволяют предварительно установить критерии подбора кандидатов в члены космических экипажей.

Комплекс апробированных методик для количественной оценки типа ОК и уровня КБ может быть эффективно использован для динамического наблюдением за характером складывающегося в космическом экипаже микроклимата и для прогноза влияния «человеческого фактора» на безопасность полета.

ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ АПОПТОЗА ПО АКТИВНОСТИ КЛЮЧЕВЫХ ГЕНОВ-ИНДУКТОРОВ И ГЕНОВ-ИНГИБИТОРОВ ПРИ НИЗКОДОЗОВОМ IN VIVO ВОЗДЕЙСТВИИ АЛЬФА- И ГАММА-ИЗЛУЧЕНИЯ

И.Б. Корзенева

ФГУП «РФЯЦ-ВНИИЭФ», Саров, Россия, e-mail: inna-korzeneva@yandex.ru

Радиационно-эпидемиологический регистр Российского Федерального ядерного центра (РФЯЦ-ВНИИЭФ) проводит исследования молекулярно-генетических основ индивидуальной реакции человека на воздействие всех видов ионизирующего излучения (ИИ). Одним из важных практических приложений этих исследований является разработка методологических и практических подходов к разработке индивидуальных программ прогнозирования, профилактики и лечения заболеваний у работников атомной отрасли в целях последующего внедрения технологий персонализированной медицины.

Целью данного исследования являлось установление ведущего пути, по которому запускается процесс апоптоза, когда наиболее интенсивным первоначальным сигналом является низкодозовое воздействие плотно ионизирующего альфа-ИИ или редко ионизирующего гамма-ИИ.

Материалы и методы. Экспериментальные исследования выполнены на образцах сыворотки периферической венозной крови и лимфоцитарных лизатов плазмы двух групп персонала одного из объектов использования атомной энергии (ОИАЭ) Госкорпорации «Росатом», при этом первая группа подвергалась *in vivo* преимущественно воздействию альфа-излучения, а вторая – гамма. Общая численность выборки – 86 человек. Исследование проводилось при помощи оборудования последнего поколения – системы «MagPix» для мультиплексного анализа биомаркеров, работающей по технологии Lumiplex® xMAP®.

Результаты. Выполнено измерение и последующая аналитическая оценка уровней экспрессии 7-ми ключевых генов-маркеров раннего апоптоза (индукторы – JNK, BAD, TP53, CASP-8, CASP-9, ингибиторы – BCL-2, АКТ). Установлены превалирующие молекулярные сигнальные пути индукции апоптоза и оценена их активность. В результате сравнительного анализа экспрессии всех вовлеченных генов выявлены существенные различия в составе основных регуляторов апоптоза в альфа- и гамма-облученных группах персонала. По результатам составлена карта относительной активности путей апоптоза для исследованных групп. Измерено содержание 26-ти циркулирующих онкомаркеров (ОМ) в периферической крови обследованных.

Полученные данные позволяют предположить, что для обеспечения «победы» путем апоптоза над поврежденными альфа-облучением клетками организму требуется вдвое больше ресурсов, чем в случае гамма-облучения. Выявлены молекулярные механизмы, предрасполагающие к большей онконапряженности в альфа-группе – большая активность внешнего пути апоптоза (через активацию каспазы-8) и большая экспрессия генов-ингибиторов апоптоза (BCL-2 и АКТ), т.к. этот путь апоптоза (через «домен смерти» TNF-R, «рецепторы смерти» DR или «фактор смерти» FAS-L, активирующие каспазу-8) инициируется, как правило, в ответ на появление различных линий злокачественных клеток в кровотоке. Гипотезу о большей онконапряженности в альфа-группе подтверждают результаты прямого измерения циркулирующих ОМ.

Выводы. Результаты могут быть использованы для экспресс-прогнозирования индивидуальной реакции организма человека на воздействие ИИ в когортах персонала атомной науки и промышленности, военно-космических сил, пациентов и персонала радиотерапевтических и рентгенологических отделений клиник.

ЭКСПРЕССИЯ КЛЮЧЕВЫХ БЕЛКОВ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ РАСПОЗНАВАНИЯ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК, РЕПАРАЦИИ И АПОПТОЗА ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО ВЛИЯЕТ НА ИММУНИТЕТ И ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ НИЗКОДОЗОВОМ АЛЬФА- И ГАММА-ОБЛУЧЕНИИ IN VIVO. ИММУНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЧАСЫ

И.Б. Корзенева¹, Т.Т. Радзивил²

¹Российский федеральный ядерный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики (ФГУП «РФЯЦ-ВНИИЭФ»), Саров, Россия.

²Сибирский Федеральный научно-клинический центр (СибФНКЦ ФМБА), Северск, Россия.

inna-korzeneva@yandex.ru

Для выявления эффектов действия малых доз ионизирующего излучения (ИИ) на человека, для оценки и прогнозирования состояния здоровья облученных лиц и их потомков необходимо проведение исследований с применением современных молекулярно-генетических технологий. Только накопление экспериментальных данных, полученных при анализе биообразцов облученного in vivo персонала, позволит разработать эффективные «рискометры» основных социально-значимых заболеваний для различных контингентов людей, подвергающихся пролонгированному действию ИИ. В последнее время публикуется все больше данных о том, что хроническое воздействие вредных экзогенных факторов, включая ИИ, даже в низких концентрациях приводит к снижению экспрессии важнейших генов, что ослабляет контроль организма за возникновением широкого спектра заболеваний.

Целью данного исследования является изучение молекулярных механизмов возникновения и развития хронических и острых заболеваний в когортах лиц, подвергающихся действию малых доз двух видов ИИ – плотно ионизирующего корпускулярного альфа- и низко ионизирующего фотонного гамма-излучения.

Материалы и методы. Экспериментальные исследования выполнены на образцах периферической венозной крови персонала двух групп персонала одного из объектов использования атомной энергии (ОИАЭ), при этом первая группа подвергалась in vivo преимущественно воздействию альфа-излучения, а вторая – гамма. Общая численность выборки – 86 человек. Методом ИФА были оценены 19 показателей иммунного статуса (общие показатели иммунитета, характеристики его Т- и В-звеньев). Иммуноцитохимическим методом по технологии проточной цитометрии измерена экспрессия ключевых DDR-белков сигнальных путей распознавания повреждений ДНК, их репарации и апоптоза поврежденных клеток (wip1, rad50, mdm2, nbs1, mre11, atm, brca1).

Результаты. Для раннего обнаружения заболеваний верхних дыхательных путей, болезней органов пищеварения, мочеполовой системы, нарушений обмена веществ и эндокринных заболеваний выявлен ряд молекулярных маркеров, дифференциально информативных в разных условиях облучения; разработаны «иммуно-генетические часы», специфичные для персонала, контактирующего с альфа- и гамма-ИИ; установлены различия в механизмах формирования большинства заболеваний в этих группах персонала.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о том, что молекулярно-генетические изменения не остаются без последствий не только для клетки, но и для организма в целом, и выражаются в различном влиянии на механизм возникновения как хронических, так и острых заболеваний.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНГИБИТОРОВ NO-СИНТАЗ В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВ ПРОФИЛАКТИКИ ОСЛОЖНЕНИЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ В ОБЛАСТИ МАЛОГО ТАЗА

*А.О. Косаченко, В.А. Рыбачук, К.А. Николаев, Л.И. Шевченко, О.В. Солдатова,
А.А. Шитова, С.Н. Корякин, А.С. Филимонов, М.В. Филимонова*

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ НМИЦ
радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия, e-mail: br.shepard@list.ru

Резюме. Проведена серия пилотных экспериментов на самцах мышей и крыс по оценке эффективности применения ингибиторов NO-синтаз для профилактики осложнений лучевой терапии органов малого таза. Соединение N62 как на ранних, так и на отдаленных сроках (11 - 41 сутки) после лучевого воздействия защищает слизистую мочевого пузыря, толстой и прямой кишки, снижая выраженность радиационно-индуцированных повреждений и улучшая общее состояние животных. Результаты свидетельствуют о перспективности данного подхода.

Ключевые слова: ингибиторы NO-синтаз, радиопротекторы, осложнения радиотерапии, средства профилактики

EVALUATION OF THE EFFICACY OF NO-SYNTASE INHIBITORS AS A MEANS OF PREVENTING COMPLICATIONS OF RADIATION THERAPY IN THE PELVIC AREA

*A.O. Kosachenko, V.A. Rybachuk, K.A. Nikolaev, L.I. Shevchenko, O.V. Soldatova,
A.A. Shitova, S.N. Koryakin, A.S. Filimonov, M.V. Filimonova*

A. Tsyb Medical Radiological Research Center – Branch of the National Medical Research
Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia,
e-mail: br.shepard@list.ru

Summary. A series of pilot experiments on male mice and rats to evaluate the efficacy of NO synthase inhibitors as prevention of complications of radiation therapy of the pelvic organs has been performed. Compound N62 both at early and late terms after radiation exposure protects the mucosa of the bladder, colon and rectum, reducing the severity of radiation-induced injuries and improving the general condition of the animals. The results indicate the promise of this approach.

Key words: NO synthase inhibitors, radioprotectors, radiotherapy complications, prophylactic agents

Лучевая терапия органов малого таза может сопровождаться развитием лучевых реакций и осложнений со стороны мочевого пузыря и прямой кишки - лучевых цистита и ректита. Существующие средства и подходы к профилактике развития данных осложнений несовершенны, в связи с чем, актуальна разработка новых способов предупреждения развития лучевых реакций со стороны органов малого таза.

В лаборатории радиационной фармакологии МРНЦ им. А.Ф. Цыба синтезируются и исследуются соединения – ингибиторы NO-синтаз, потенциально способные селективно защищать здоровые ткани от воздействия ионизирующего излучения. В ранее проведенных исследованиях нами показана высокая перспективность применения ингибиторов NO-синтаз в качестве средств профилактики развития осложнений лучевой терапии. В настоящее время исследования в этом направлении продолжаются.

Целью работы являлась оценка эффективности нового ингибитора NO-синтаз под условным шифром N62 в качестве средства профилактики лучевых цистита и ректита у мышей и крыс.

Самцы мышей F₁(СВАхС₇В1/6j) были разделены на три группы: «Контроль облучения», «N62 150 мг/кг» и «N62 225 мг/кг». Самцы крыс линии Wistar были разделены на группы: «Контроль облучения» и «N62 225 мг/кг». Животные подвергались однократному лучевому воздействию в области малого таза β-излучением на ускорителе электронов «Novac-11» в дозе 25 Гр с энергией электронов 10 МэВ. Животные экспериментальных групп «N62 150 мг/кг» и «N62 225 мг/кг» за 25-40 минут до облучения получали соединение N62 внутрижелудочно (в/ж) в дозах 150 и 225 мг/кг, соответственно. На 11 и 41 сутки после лучевого воздействия у животных выделялись мочевой пузырь, прямая и толстая кишка для гистологических исследований.

Лучевой цистит. На 7-10 сутки у мышей после облучения группы «Контроль облучения» отмечалось снижение веса, нарастание пиурии, и присутствие примеси крови в моче. На 11 сутки эпителий мочевого пузыря истончен, базальный слой представлен единичными клетками, мышечная оболочка отечна, миофибриллярный аппарат гладкомышечных клеток в миоцитарных комплексах дезорганизован. На 41 сутки переходный эпителий на протяжении слизистой неравномерной толщины. Клетки базального слоя распределены неравномерно, в некоторых участках слизистой оболочки отсутствуют.

Применение соединения N62 в качестве средства защиты оказало смягчающее воздействие на общее состояние животных. На 11 сутки слизистая оболочка мочевого пузыря находилась в более сохранном состоянии, в эндотелии не обнаруживалось признаков деструкции. На 41 сутки у животных обеих экспериментальных группы строение эпителиального и мышечного слоев не отличалось от здоровых животных.

У облученных самцов крыс, не получавших лечения, эпителиальная выстилка слизистой оболочки чаще всего состояла из 2 слоев клеток, а в отдельных участках в ней определялся только слой базальных клеток.

Животные в группе «N62 225 мг/кг» меньше теряли в весе. Слизистая оболочка мочевого пузыря содержала 2-3 слоя эпителиальных клеток. Отмечалась стабилизация поврежденных морфологических структур.

Лучевой ректит. На 11 сутки в строении прямой и толстой кишки мышей в группе «Контроль облучения» наблюдались деструкция отдельных крипт, отек собственной пластинки слизистой оболочки и подслизистой основы. На 41 сутки в строении слизистой отмечалось отсутствие митозов, крипты с морфологическими признаками деструкции.

На 11 сутки строение слизистой толстой кишки мышей в группе «N62 150 мг/кг» не отличалось от интактных животных, слизистая прямой кишки была слегка отечна. К 41 суткам строение толстой и прямой кишки не отличалось от интактных животных.

У мышей в группе «N62 225 мг/кг» как на 11, так и на 41 сутки строение толстой и прямой кишки полностью соответствовало интактным животным.

При развитии лучевого ректита у крыс в группе «Контроль облучения» слизистая оболочка кишки отечна. Выявлялись отдельные крипты в стадии деструкции. Отмечалось наличие клеток эпителия, погибающих путем апоптоза. В подслизистой основе наблюдались небольшие участки разрастания соединительной ткани.

У крыс в группе «N62 225 мг/кг» архитектура толстого кишечника не изменена. Собственная пластинка слизистой оболочки местами с небольшим отеком. В криптах видны единичные митотически делящиеся энтероциты.

Таким образом, в пилотных исследованиях показана высокая перспективность ингибиторов NO-синтаз, в частности, нового соединения N62 в качестве средства защиты здоровых тканей при лучевой терапии злокачественных новообразований в области малого таза.

**ОЦЕНКА ДИНАМИКИ СОДЕРЖАНИЯ ЛАКТАТА В КАЧЕСТВЕ
ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО МАРКЕРА
РАДИОПРОТЕКТОРНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ NOS-ИНГИБИТОРА T1023**

В.М. Макаrchук, М.В. Филимонова, Л.И. Шевченко, А.С. Филимонов, О.С. Измestева

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба –
филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия,
e-mail: vikymakarchuk@mail.ru

Резюме. В экспериментах на крысах изучено влияние соединения T1023 на динамику содержания лактата в крови и компенсаторные сдвиги в газовом и кислотно-основном составе крови, препятствующие развитию ацидоза, проведено сопоставление этих данных с кардиоваскулярными и радиобиологическими эффектами соединения T1023. Показано, наличие выраженной корреляции между противолучевым действием T1023 и индуцированной им лактатемией, которая компенсировалась физиологическим балансом газового и кислотно-основного состава крови. Сделан вывод о возможности использования лактатемии в качестве фармакологического маркера изменения радиорезистентности.

Ключевые слова: ингибиторы NOS, гипоксический радиопротектор, лактатемия, кислотно-основное состояние, фармакологический маркер

**EVALUATION OF LACTATE CONCENTRATION DYNAMICS AS A
POTENTIAL PHARMACOLOGICAL MARKER OF THE RADIOPROTECTIVE
EFFICIENCY OF NOS-INHIBITOR T1023**

V.M. Makarchuk, M.V. Filimonova, L.I. Shevchenko, A.S. Filimonov, O.S. Izmesteva
A. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research
Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia,
e-mail: vikymakarchuk@mail.ru

Summary. In experiments on rats, the effect of compound T1023 on the dynamics of blood lactate concentration and compensatory shifts in the gas and acid-base composition of the blood, which prevent the development of acidosis, was studied, and these data were compared with the cardiovascular and radiobiological effects of compound T1023. It was shown that there is a pronounced correlation between the radiation protection effect and T1023-induced lactatemia, which was compensated by the physiological balance of the gas and acid-base composition of the blood. The conclusion is made about the possibility of using lactatemia as a pharmacological marker of changes in radioresistance.

Keywords: NOS inhibitors, hypoxic radioprotector, lactatemia, acid-base state, pharmacological marker

В результате химического и фармакологического скрининга ряда новых N-ацил,S-алкил замещённых производных изотиомочевины нами для дальнейших исследований отобрано соединение T1023, которое является ингибитором синтаз эндогенного оксида азота (NOS-ингибитор). Имеющиеся на сегодняшний день экспериментальные данные свидетельствуют о высокой радиозащитной эффективности и относительной безопасности этого соединения, а также о его способности к избирательной противолучевой защите немалигнизированных тканей. В этой связи несомненна перспективность дальнейшей разработки этого соединения, как в качестве радиопротектора, так и в качестве средства профилактики осложнений лучевой терапии. В то же время проведение доклинических и клинических исследований

лечебно-профилактической эффективности противолучевых средств в отношении, например, острой лучевой болезни не представляются возможными без обоснования и верификации фармакологических маркеров специфической активности таких лекарственных средств, позволяющих экстраполицию противолучевых эффектов с животных на человека. Исходя из возможных механизмов радиозащитного действия соединения T1023, одним из которых, вероятно, является индукция тканевой гипоксии, маркером противолучевой активности этого вещества может быть увеличение продукции лактата и содержания его в крови – возрастание лактатемии как одного из наиболее ранних признаков уменьшения снабжения тканей кислородом. Целью данной работы являлось изучение влияния соединения T1023 на содержание лактата, газовый и кислотно-щелочной состав крови животных для экспериментальной оценки возможности использования уровня лактатемии в качестве фармакологического маркера радиорезистентности при действии T1023.

Материалы и методы. Исследования выполнены на самцах крыс линии Вистар в возрасте 3-4 мес. Предварительно животных наркотизировали путём внутривентрикулярной инъекции раствора тиопентала натрия в дозе 80 мг/кг, затем им проводили трахеотомию и устанавливали трахеостому, а также катетеризировали правую сонную артерию, из которой производили забор образцов крови. Соединение T1023 вводили внутривентрикулярно в дозах 25-150 мг/кг, в качестве препарата сравнения использовали радиопротектор с доказанным гипоксическим механизмом действия - мексамин в дозе 20 мг/кг, внутривентрикулярно, животным из контрольной группы внутривентрикулярно вводили эквивалентный объём 0,9% раствора хлорида натрия. Изучение кислотно-щелочного и газового состава артериальной крови животных проводили на анализаторе ABL80 FLEX CO-OX (Radiometer Medical ApS, Дания) сразу после забора крови. Концентрацию лактата в сыворотке артериальной крови определяли в течение 30 мин после забора пробы с помощью биохимического анализатора Randox RX Monza (Randox, Великобритания).

Результаты. Выявлено, что мексамин и T1023 в использованных дозах не оказывали какого-либо влияния на процессы оксигенации и кислородтранспортную функцию крови. Вместе с тем, эти соединения вызывали однонаправленные изменения в артериальной крови экспериментальных животных, косвенно отражающие развитие у них тканевой гипоксии, - увеличение содержания лактата, которое сопровождалось компенсаторными изменениями кислотно-щелочного и газового состава крови, предотвращающими развитие ацидоза. Величина лактатемии у животных, получавших соединение T1023, в значительной степени зависела от использованной дозы. При дозах T1023, не обладающих радиозащитным действием (25 мг/кг), и минимальных радиозащитных дозах (40 мг/кг) возрастание лактатемии оставалось в пределах статистической тенденции, а компенсаторные сдвиги со стороны систем регуляции гомеостаза носили ограниченный характер. Но в оптимальной радиозащитной дозе (75 мг/кг) и сверхоптимальной дозе (150 мг/кг) соединение T1023 вызывало у крыс такие же по характеру и выраженности изменения, какие были индуцированы мексamiном в эффективной радиозащитной дозе 20 мг/кг. Эти данные свидетельствуют, что, несмотря на различие молекулярных механизмов действия, соединение T1023 – ингибитор NOS, блокирующий NOS/sGC/cGMP-путь релаксации сосудов, и мексамин – агонист 5HT₂-рецепторов, активирующий вазопрессорный PLC/IP3/PKC-путь, имеют общий физиологический механизм действия и реализуют свои противолучевые эффекты преимущественно гипоксическим путем.

При изучении динамики содержания лактата и компенсаторных сдвигов в газовом и кислотно-основном составе крови, препятствующих развитию ацидоза, выявлено, что эти изменения отчетливо коррелируют по времени с

кардиоваскулярными эффектами соединения T1023, индуцирующими транзиторную гипоксию. Сопоставление этих данных с радиобиологическими эффектами T1023 показало наличие выраженной корреляции между противолучевым действием T1023 и индуцированной им лактатемией. При этом выявленная взаимосвязь количественно описывается простыми линейными моделями.

Заключение. Полученные данные показывают, что использованные доступные лабораторные методы адекватно отражают гипоксическое и радиозащитное действие ингибитора NOS T1023 в динамике. Это свидетельствует, что лактатемия может являться фармакологическим маркером изменения радиорезистентности. Полная верификация такого маркера, потенциально, может позволить T1023 преодолеть существующие препятствия клинических испытаний радиопротекторов.

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТЕЙ ИНГИБИТОРОВ NOS В ПРОФИЛАКТИКЕ ЛУЧЕВЫХ ПАТОЛОГИЙ, ИНДУЦИРОВАННЫХ КОРПУСКУЛЯРНЫМИ ИЗЛУЧЕНИЯМИ

К.А. Николаев, В.А. Рыбачук, А.О. Косаченко, Л.И. Шевченко, О.В. Солдатова, А.А. Шитова, В.О. Сабуров, А.С. Филимонов, М.В. Филимонова

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ НМИЦ радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия, e-mail: nirealki@gmail.com

Резюме. В экспериментах на мышах исследована способность ингибитора NOS iNOS-A к профилактике ОЛБ при общем равномерном облучении протонами с энергиями до 150 МэВ и на пике Брэгга (78-104 МэВ). Показано, что iNOS-A при прервентивном в/ж введении в безопасной дозе (200 мг/кг; 1/11 ЛД₁₀) обеспечивает эффективную профилактику ОЛБ, индуцированную протонами обеих энергий (ФИД – 1.3-1.4). Применение iNOS-A достоверно повышало выживаемость животных и эффективно противодействовало развитию как костномозговой, так и кишечной форм ОЛБ.

Ключевые слова: космическое излучение, протоны, ингибиторы NOS, радиозащитное действие, лучевая болезнь.

ESTIMATION OF THE POTENTIAL OF NOS INHIBITORS TO PREVENT RADIATION PATHOLOGIES INDUCED BY CORPUSCULAR RADIATION

К.А. Николаев, В.А. Рыбачук, А.О. Косаченко, Л.И. Шевченко, О.В. Солдатова, А.А. Шитова, В.О. Сабуров, С.Н. Коракин, А.С. Филимонов, М.В. Филимонова

A. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia, e-mail: nirealki@gmail.com

Summary. In experiments on mice the possibility of nitric oxide synthase inhibitor (NOS) iNOS-A in the prevention of radiation pathologies induced by protons with energy of 140 MeV was studied. It was shown that the studied compound has a high prophylactic efficacy against fast protons. Application of our radioprotector reliably increases animal survival rate and effectively counteracts the development of bone marrow and intestinal forms of ARS.

Key words: protons, irradiation, NOS inhibitor, radioprotectors, survival rate, radiation sickness, cosmic rays.

В настоящее время ионизирующие излучения стали неотъемлемой частью среды обитания человека. Прогресс в энергетике, медицине, авиации и космонавтике стремительно расширяет контакт человека не только с редкоионизирующими, но и с корпускулярными излучениями (КИ). В обозримом будущем неизбежно наступление эры пилотируемых космических полетов. И в этой связи высокую актуальность приобретает задача обеспечения радиационной безопасности космических экипажей. Основным компонентом космической радиации являются КИ, воздействие которых на биологические объекты протекает с существенными отличиями по механизмам выделения энергии и спектрам молекулярных повреждений от действия фотонных излучений. По этим причинам возможности радиозащитных средств, разработанных для противодействия γ -излучению, невозможно экстраполировать для прогноза их противолучевой эффективности в отношении патологий, индуцированных протонами, нейтронами и ТЗЧ. Это требует отдельных исследований.

В лаборатории радиационной фармакологии МРНЦ им. А.Ф. Цыба разработана группа гипоксических радиопротекторов с NOS-ингибирующим механизмом действия, способных к эффективной профилактике острой лучевой болезни (ОЛБ) при воздействии γ -излучения (ФИД – 1.6-1.9), а также к селективной профилактике осложнений лучевой терапии опухолей.

Цель исследования: изучить способности ингибитора NOS под условным шифром INOS-A к профилактике ОЛБ у мышей при тотальном облучении протонами различных энергий – до пика Брэгга и на пике Брэгга.

Методы исследования включали изучение влияния соединения INOS-A при превентивном введении (200 мг/кг, однократно, в/ж, за 30 мин до облучения) на 30-суточную выживаемость самцов мышей F₁ (СВА×С57В1/6j) при общем равномерном облучении в дозах 6.1-11.1 Гр протонами сканирующего пучка «Прометеус» (МРНЦ, Обнинск) с энергиями 150 МэВ (до пика Брэгга) и 78-104 МэВ (расширенный до 35 мм пик Брэгга).

Результаты исследования показали, что энергия протонов при тотальном равномерном облучении значимо не влияла на их относительную биологическую эффективность (ОБЭ) по индукции ОЛБ у мышей: для добрэгговских протонов ОБЭ (в сопоставлении с γ -излучением ⁶⁰Со) составляла 1.08 (1.02÷1.17), для протонов на пике Брэгга – 1.10 (1.03÷1.19). Профилактическое применение INOS-A в безопасной дозе (200 мг/кг; 1/11 ЛД₁₀) эффективно противодействовало развитию ОЛБ у мышей при облучении протонами обеих энергий: по тесту 30-суточной выживаемости ФИД соединения INOS-A составлял 1.30-1.33 для быстрых протонов, и 1.36-1.41 – для протонов на пике Брэгга. При этом анализ диаграмм выживаемости мышей свидетельствовал, что профилактическое действие INOS-A достоверно противодействовало развитию как костномозговой ($p = 0.00001-0.00029$), так и кишечной формы ОЛБ ($p = 0.00175-0.00426$), индуцированной протонами.

Выводы: полученные на сегодняшний день данные показали, что гипоксические радиопротекторы, в частности, INOS-A, способны эффективно противодействовать не только γ -излучению, но и сохраняют высокую противолучевую активность в отношении протонов. Это свидетельствует о целесообразности дальнейшего экспериментального изучения способностей этого и аналогичных соединений к профилактике осложнений протонной терапии опухолей на пучке «Прометеус», а также их радиозащитных возможностей при воздействии нейтронов и тяжелых заряженных частиц.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ФОКУСОВ БЕЛКОВ РЕПАРАЦИИ ДНК В МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ^3H -ТИМИДИНА И ТРИТИРОВАННОЙ ВОДЫ

*А.А. Осипов¹, М.В. Пустовалова², А.К. Чигасова³, Н.Ю. Воробьева^{1,2}, Д.И. Кабанов²,
В.Г. Барчуков², О.А. Кочетков², А.Н. Осипов^{1,2}*

¹ФИЦ ХФ РАН им. Н.Н. Семёнова РАН, Москва, РФ;

²ФГБУ ГНЦ РФ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, РФ;

³ИБХФ РАН им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, РФ e-mail: a-2-osipov@yandex.ru

Тритий - является одним из основных побочных продуктов ядерной промышленности, попадающих в окружающую среду. В связи с этим, возрастают опасения по поводу потенциальных последствий его поступления в организм для здоровья человека. Ситуацию усугубляет то, что из-за недостатка информации о биологических эффектах трития нет единого мнения международного сообщества по вопросам нормирования поступления неорганических и органических соединений трития в организм человека. Целью настоящей работы стало изучение количественных изменений фокусов белков-маркеров двунитовых разрывов (ДР) ДНК γH2AX , 53BP1 и αTAM в культивируемых мезенхимальных стромальных клетках (МСК) человека при воздействии ^3H -тимидина и тритированной воды (НТО). В исследовании было показано, что при инкубации МСК с ^3H -тимидином наблюдается дозозависимое увеличение количества фокусов γH2AX на 24 ч инкубации, после отмечается плато. При инкубации МСК с НТО увеличение количества фокусов γH2AX отмечалось только через 24 ч. Сравнение линейных угловых коэффициентов показало, что количественный выход фокусов γH2AX при воздействии ^3H -тимидина в течение 24 часов \sim в 6 раз выше, чем при воздействии НТО. Характер изменений количества фокусов 53BP1 и γH2AX был сходен, так же наблюдается дозозависимое увеличение количества фокусов 53BP1 на 24 ч инкубации, после отмечается плато. Также схожа картина изменений количества 53BP1 в ядрах МСК, инкубированных с НТО: наблюдается увеличение количества фокусов в ранний период инкубации (24 ч), после чего следует их снижение до контрольных значений. В целом количественный выход фокусов 53BP1 был близок к количественному выходу фокусов γH2AX . Как и в случае с γH2AX и 53BP1 в течение первых 24 ч инкубации отмечалось линейное увеличение фокусов αTAM , после чего регистрировалось плато. НТО не вызывало статистически достоверного увеличения количества фокусов αTAM в МСК. При сравнении эффектов воздействия ^3H -тимидина и НТО по выходу фокусов αTAM получается очень высокий коэффициент \sim 27, существенно отличающийся от коэффициента полученного для фокусов γH2AX и 53BP1 (\sim 6). 48 ч инкубация с ^3H -тимидином с удельной радиоактивностью 300 МБк/л снижает долю Ki67 (белок-маркер клеточной пролиферации) позитивных клеток примерно в 2.5 раза, а инкубация в среде с удельной радиоактивностью 400 МБк/л уже в 3.6 раза. В тоже время, НТО с удельной радиоактивностью 100-400 МБк/л не влияет на пролиферативную активность культивируемых МСК. По всей видимости, это обусловлено различиями в кинетике включения этих соединений в живые клетки. При одинаковой удельной радиоактивности в среде культивирования ^3H -тимидин включается в клетки в 87 раз активней по сравнению с НТО. Работа была выполнена при поддержке гранта РФФ № 22-2400490.

РАЗРАБОТКА ПРОТИВОЛУЧЕВЫХ СРЕДСТВ КАК АСПЕКТ РАЗВИТИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ РАДИОБИОЛОГИИ И КАК ФАКТОР ПОДДЕРЖАНИЯ РАДИАЦИОННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ

Л.М. Рождественский

ГНЦ Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И.Бурназяна, Москва,
Российская Федерация, lemrod@mail.ru

RADIATION COUNTERMEASURE AGENTS ELABORATING AS THE ASPECT OF FUNDAMENTAL RADIOBIOLOGY PROGRESSING AND A FACTOR OF RADIATION SAFETY SUPPORTING

L.M. Rozhdstvensky

State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical
Biological Agency, Moscow, Russia, lemrod@mail.ru

В год 30-летия деятельности Научного совета по радиобиологии РАН необходимо отметить особую роль этой структуры, объединяющей как никакая другая специалистов разного профиля и ведомственной принадлежности в решении задач, связанных с действием радиационного фактора и имеющих как правило комплексный характер.

Если посмотреть на разработку ПЛС в историческом разрезе, то станет очевидной ее связь с лидирующей радиобиологической концепцией в тот или иной период.

1. В 50-70-х годах XX века ведущее положение в представлениях о патогенезе радиационных поражений занимали концепции свободных радикалов воды, кислородного эффекта, активных форм кислорода и азота, цепных окислительных процессов. Отсюда основным направлением поиска были радиопротекторы (РП), направленные на предотвращение (перехват, блокирование) действия указанных окисляющих агентов (З.Бак, П.Александр). Поиск вели преимущественно среди веществ-восстановителей с тиоловыми группами различной структуры, среди агентов, вызывающих гипоксию разного генеза, среди веществ широкого профиля, получивших наименование антиоксидантов. Большинство из созданных в этот период классификаций ПЛС базировалось на использовании в качестве основного классифицирующего признака показателя 30-суточной выживаемости мышей при кроветворной форме острого лучевого поражения (Z.M.Back, В.И.Легеза и В.Г.Владимиров, М.В.Васин, N. M. Xiao and M. Whitnall).

Итогом этого подхода стало открытие в качестве весьма эффективных в эксперименте радиопротекторов таких групп веществ как аминокислоты и биогенные амины (в арсенале противолучевых средств для человека в настоящее время реально фигурируют, хотя и с весьма ограниченным применением из-за побочных эффектов, - зарубежный аминокислот амифостин и отечественный α -адреномиметик индралин/Б-190). Менее успешными оказались поиски эффективных ПЛС среди природных и синтетических антиоксидантов.

2. Новое направление поиска ПЛС оформилось после обращения к исследованию высокомолекулярных соединений (60-70-е гг). Из них постепенно на первый план вышли полисахариды и полипептиды как экзогенной (главным образом, микробного происхождения вплоть до корпускулярных вакцин), так и эндогенной природы (регуляторные полипептиды, получившие наименование цитокинов, или эндогенных иммуномодуляторов). Ведущей концепцией механизма противолучевого действия препаратов 2-й группы стало представление о противодействии клеточной гибели, прежде всего, клеток стволового типа, в быстро обновляющихся радиочувствительных

тканях костного мозга и лимфоидных органов, т.е. в системе иммуногемопоэза. Такое вмешательство происходит путем более ранней и генерализованной мобилизации находящихся в G_0 клеток стволового типа в клеточный цикл, ингибирования внутриклеточных сигналов реализации апоптоза, переключения сигнала на аутофагию. Препараты этой группы можно подразделить на 2 подгруппы: гемопоэтических ростовых факторов (Г-КСФ, ГМ-КСФ) и пусковых провоспалительных цитокинов (ИЛ-1/беталейкин, тромбопоэтин/револейд, СБЛВ-502/энтолимод). Все это позволило взглянуть на вопрос классификации ПЛС с иных позиций, когда основными классифицирующими признаками. становятся сигнальные фармакологические эффекты ПЛС, лежащие в основе состояния повышенной радиорезистентности (В.И.Кулинский, Л.М.Рождественский).

Таким образом, сформировались 2 группы ПЛС (радиопротекторов/оксидомодуляторов и радиомодификаторов/иммуномодуляторов), принципиально отличающиеся по характеру своего действия и модифицируемому этапу развития лучевого поражения.

Основной задачей, стоящей перед разработчиками ПЛС, остается обеспечение радиационной безопасности при экстремальных ситуациях аварийного, военного и террористического характера, о чем прямо сказано в Указе Президента РФ от 13.10.18 № 585. Однако, ситуацию, сложившуюся в настоящее время с поддержанием и укреплением радиационной безопасности трудно охарактеризовать как успешную (Табл.)

Таблица

**Ресурс медикаментозного обеспечения
внезапных радиационных инцидентов (γ -излучение)**

Препараты: <u>экстренного применения</u>		<u>длительного применения</u>	
РЕАЛЬНЫЕ	Радиопротекторы (до облучения)	Радиомодификаторы (после облучения)	Поддерживающая терапия
	Индралин	Беталейкин (1?)	
		Г-КСФ →	Цитокиновая терапия
ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ	Амифостин (зарубежный)	Тромбопоэтин (зарубежный)	
		Флагеллин	
		T1023 (ингибитор NO-синтаз)	

1. Имеющиеся ПЛС надо доводить до статуса препаратов двойного назначения, т.е. исказь возможности их применения в общей медицинской практике.
 2. Вместо поиска новых противолучевых средства надо сосредоточиться на разработке рецептур/комбинаций из имеющихся эффективных ПЛС с привлечением фармакологов и на применении моделей КРП и СРП.

Из данных Табл. видно, что реально из средств экстренного применения в наличии у медслужбы есть лишь Индралин, а наиболее востребованный в таких ситуациях Беталейкин не производится из-за отсутствия средств для выполнения требований надзорной организации к условиям производства. История с беталейкином еще раз подтвердила необходимость государственного менеджмента в области разработки ПЛС, который существовал в 80х – 90х гг, но затем был утрачен. Крайняя медлительность в разработке T1023 и Флагеллина только подкрепляет этот вывод.

Наряду с укреплением радиационной безопасности экстремальных ситуаций нельзя забывать о необходимости находить применение ПЛС и в общей медицинской практике, прежде всего, при химиолучевой терапии онкозаболеваний так как это обеспечивает рентабельность их производства и опыт работы с ними. Твердые позиции

здесь имеет лишь Г-КСФ. Хотя небезуспешные попытки в этом плане предпринимались с Беталейкином, но должной поддержки они не получили.

В качестве поиска способов выхода из кризиса в разработке противолучевых средств для экстремальных ситуаций и практики химиолучевой терапии онкозаболеваний рассматриваются следующие направления:

разворот к отказу от концепции «идеального радиопротектора» и к разработке противолучевых рецептур на базе имеющихся препаратов (с участием фармакологов) в противовес доминировавшему в течение длительного времени поиску новых препаратов,

решение задачи внедрения противолучевых средств (ПЛС) в широкую медицинскую практику (с неперенным участием медиков) в качестве не только противолучевых, но и фармакологических агентов (на примере попыток с беталейкином и, возможно, с Т-1023, ингибитором NO-синтазы),

постановка крупных исследовательских проектов по созданию новых рецептур и подходов на основе новых технологий (например, гибернотерапия) в недостаточно изученных, но весьма актуальных аспектах действия ионизирующего излучения (космические полеты, канцерогенный эффект самых различных радиационных воздействий, особенно, пролонгированного воздействия с низкой мощностью дозы).

3. Наиболее многообещающей в решении проблемы практического применения ПЛС в широкой медицинской практике видится разработка комбинаций (рецептур) ПЛС друг с другом или с фармакологическими препаратами, антагонистичными к нежелательным побочным эффектам ПЛС. При этом задачей первостепенной важности видится выявление биомаркеров повышенной радиорезистентности при введении ПЛС до облучения, или – усиленного/ускоренного восстановления в случае постлучевого их применения, так как такой подход это по сути единственная возможность реально заниматься внедрением ПЛС в широкую медицинскую практику (решать сложную задачу непосредственной оценки противолучевой эффективности допустимой дозы ПЛС для человека на 2-й стадии клинических испытаний) и оценивать возможности ПЛС и их рецептур в экстремальных радиационных ситуациях.

4. Поиск препаратов, способных снизить уровень отдаленных эффектов ионизирующего излучения (прежде всего, канцерогенный эффект), становится ведущим в разработке ПЛС нового поколения. Речь должна идти о препаратах, которые смогут обеспечить поддержание на повышенном функциональном уровне системы Р-53 в течение всего длительного периода от момента облучения до сроков появления опухолей.

5. Совершенно неосвоенными с позиций медикаментозной противолучевой защиты остаются действие плотноионизирующих излучений (нейтроны, альфа-излучение, ядра тяжелых металлов) и действие редкоионизирующих излучений в сверхсмертельных дозах. В качестве промежуточного подхода к поиску способов противолучевой терапии для всех вышеуказанных ситуаций можно поставить задачу консервации тяжелого лучевого поражения на самых ранних стадиях. Это можно сравнить с введением пациентов при тяжелых повреждениях в искусственную кому. При лучевом поражении это будет использование способов гибернации, т.е. существенное снижение температуры тела с помощью физических охладителей и под прикрытием фармакологических средств отключения механизмов температурного гомеостаза. Время нахождения в коматозном состоянии необходимо использовать для экстракорпорального накопления сохранивших жизнеспособность собственных изогенных гемопоэтических и мезенхимальных стволовых клеток для последующей их трансплантации.

6. Другим важным направлением исследований на длительную перспективу должно бы стать изучение гормезисного эффекта низких уровней радиации. В качестве

перспективной здесь представляется модель мезенхимальных клеток с их способностью отвечать на радиационное воздействие не уменьшением, а увеличением клеточной массы, сопряженным с повышением экспрессии различных структур клеточной мембраны (имеются экспериментальные данные).

Конкретные пути преодоления кризиса:

1. Скорейшее восстановление производства беталейкина на базе ГНИИ ОЧБ.
2. Ускорение разработки отечественных препаратов флагеллина и ингибитора NO-синтаз на базе ФМБЦ им. А.И.Бурназяна и МРНЦ им. А.Ф.Цыба соответственно.
3. Обеспечение ведущих радиобиологических центров современными облучательскими гамма-установками.
4. Разработка новых методических указаний доклинических исследований с акцентом на индикаторный подход и разработку маркеров повышенной радиорезистентности и ускоренного пострадиационного восстановления.
5. Продвижение ПЛС в широкую медицинскую практику с непременным участием медиков (препараты двойного назначения) наподобие предпринятых ранее попыток с беталейкином.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕВОЛЮЦИЯ И ЕЁ УРОКИ ДЛЯ РАДИОБИОЛОГОВ

А.В. Рубанович, Н.С. Кузьмина, Н.Ш. Лаптева

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва,
Россия

E-mail: rubanovich@vigg.ru

Многолетний мониторинг генетического статуса представителей облученных локальных популяций, участников ликвидации радиационных катастроф, лиц, подвергшихся радиационному воздействию в результате профессиональной деятельности, проводимый сотрудниками лаборатории экологической генетики ИОГен РАН (анализ aberrаций хромосом, мутаций генов и мини-/микросателлитных локусов, CD95⁺ - предикторов апоптоза) свидетельствует о повышенном уровне соматического мутагенеза в ближайшие и отдаленные сроки после экспонирования. Аналогичные эффекты выявляются и у детей – потомков облученных родителей. Эпигенетические эффекты – новый аспект последствий радиационного воздействия на организм человека. На протяжении нескольких лет нами проводилось пилотное изучение радиационно-индуцированного гиперметилирования промоторов генов в лейкоцитах крови лиц различных контингентов (ликвидаторы аварии на ЧАЭС, жители территорий с радионуклидными загрязнениями, профессионалы-атомщики г. Сарова и работники ПО «Маяк» г. Озерска), подвергшихся хроническому или фракционированному облучению в широком диапазоне доз. Показана дифференциальная значимость возраста и радиационного воздействия в метилировании CpG-островков промоторов разных генов, что демонстрируют однонаправленные эффекты, наблюдаемые в независимых выборках облученных лиц. ROC-анализ показал высокую информативность рассмотрения выявляемых эпигенетических нарушений как биомаркеров перенесенного облучения ($AUC = 0.846 \pm 0.015$, $p = 1.5E-48$). Гиперметилирование CpG-островков генов *RASSF1A* и *p14/ARF* зависит от возраста, а эпигенетическая модификация локусов *p16/INKA* и *GSTP1* высоко значимо ассоциирована с радиационным воздействием, что верифицировано на двух тестовых выборках обследованных индивидов. Выявленный дозозависимый характер гиперметилирования изученных генов косвенно подтверждается наличием положительной ассоциативной связи между уровнем aberrаций хромосомного типа и частотой метилированных генов ($r = 0.604$, $p = 2.3E-11$). Очевидно, что выявляемый спектр нарушений генома/эпигенома является не только биоиндикатором воздействия радиации, но и может свидетельствовать о развитии функционального дисбаланса клеток организма, приводящего к преждевременному развитию мультифакториальной патологии, а также ее хронизации.

Реакция организма человека на облучение имеет место на фоне действия целого комплекса эколого-генетических факторов, в частности, введения в окружающую среду множества генотоксикантов, а также резкого изменения генетической структуры современной популяции. В первую очередь, это следует учитывать для населения городов. В конечном итоге можно говорить об изменении качества жизни и снижении биологической устойчивости облученных индивидов и популяции в целом. Поэтому разработка системы отдаленных маркеров перенесенного облучения, сопряженных с развитием различных заболеваний, является крайне важной. Исходя из последних достижений эпигенетики, локус-специфические изменения метилирования могут иметь очевидную прогностическую ценность в отношении здоровья облученного индивида, а именно в оценке его биологического возраста и риска развития той или иной радиационно-индуцированной патологии, что будет предшествовать регистрации морфофункциональных изменений органов и систем организма.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОИЗВОДНОГО ИТМ В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВА ПРОФИЛАКТИКИ ЛУЧЕВОГО ОРАЛЬНОГО МУКОЗИТА

*В.А. Рыбачук, А.О. Косаченко, К.А. Николаев, Л.И. Шевченко, А.А. Шитова,
О.В. Солдатова, С.Н. Корякин, Г.А. Демьяшин, А.С. Филимонов, М.В. Филимонова*
МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ НМИЦ радиологии Минздрава России, Обнинск,
Россия, e-mail: rybachukvitaliy@gmail.com

Резюме. На разработанной экспериментальной модели лучевого орального мукозита продемонстрирована способность производного ИТМ VV1 оказывать защитное действие при поражении слизистой языка, вызванном β -излучением. Соединение VV1 значительно повышало выживаемость животных при развитии патологии, а также снижало степень тяжести лучевого орального мукозита и площадь поражения слизистой языка.

Ключевые слова: β -облучение, производные ИТМ, лучевой оральный мукозит, осложнения лучевой терапии

STUDY OF THE POSSIBILITY OF USING AN ITM DERIVATIVE AS A PROPHYLACTIC OF RADIATION-INDUCED ORAL MUCOSITIS

*V.A. Rybachuk, A.O. Kosachenko, K.A. Nikolaev, L.I. Shevchenko, O.V. Soldatova,
A.A. Shitova, S.N. Koryakin, G.A. Demyashkin, A.S. Filimonov, M.V. Filimonova.*
A. Tsyb MRRC – Branch of the National Medical Research Radiological Center of the
Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia rybachukvitaliy@gmail.com

Summary. The developed experimental model of radiation-induced oral mucositis demonstrated the ability of ITM derivative VV1 to exert a protective effect in β -radiation-induced lesions of the tongue mucosa. Compound VV1 significantly increased the survival rate of animals in the development of the pathology, as well as reduced the severity of radiation-induced oral mucositis and the area of tongue mucosa lesions.

Key words: β -irradiation, ITM derivatives, radiation oral mucositis, complications of radiation therapy

В настоящее время наблюдается нуклонный рост числа случаев заболеваемости злокачественными новообразованиями. Одним из наиболее востребованных методов лечения остаётся лучевая терапия. Несмотря на все преимущества данного метода, его недостатком является вероятность развития лучевых реакций здоровых тканей, что значительно снижает эффективность лечения. Одной из наиболее распространенных лучевых реакций при лучевой терапии опухолей, локализованных в области головы и шеи, является лучевой оральный мукозит. Развитие орального мукозита снижает качество жизни пациентов, вынуждает назначать дополнительное лечение, а в ряде случаев прекращать курс терапии. Существующие подходы к лечению и предупреждению развивающейся патологии малоэффективны, в связи с чем, разработка новых средств профилактики является высокоперспективной задачей.

В лаборатории радиационной фармакологии МРНЦ им. А.Ф. Цыба синтезированы уникальные соединения – производные изотиомочевины (ИТМ), которые потенциально способны защищать здоровые ткани от воздействия ионизирующего излучения. В ранее проведенных исследованиях на моделях лучевого ожога кожи и пневмофиброза легких была показана высокая перспективность такого подхода. В связи с этим целесообразным является изучение производных ИТМ в качестве средства профилактики развития лучевого орального мукозита.

Целью исследования является оценка эффективности нового производного ИТМ, соединения VV1, в качестве средства профилактики лучевого орального мукозита. Исследование включало в себя несколько этапов. На первом этапе была отработана модель лучевого орального мукозита у мышей. Аутбредные мыши-самцы ($n=12$) подвергались однократному локальному лучевому воздействию в области головы-шеи β -излучением на ускорителе электронов «Novac-11» в дозе 16 Гр с энергией электронов 10 МэВ. На 2, 5, 7 и 9 сутки после лучевого воздействия, соответственно, выделяли ткани языка для гистологической оценки картины развития патологии. После β -облучения у животных постепенно развивалось поражение слизистой оболочки языка. Происходили разрушение клеток и нарушение строения эпителиальной выстилки, дистрофические и некротические изменения, что приводило к развитию у животных лучевого орального мукозита высокой степени тяжести. На последующих этапах оценивали эффективность соединения VV1 в качестве средства профилактики лучевого орального мукозита у мышей.

Тест 30-ти суточной выживаемости. Мышей-самцов $F_1(\text{CBA} \times \text{C57Bl/6j})$ ($n=30$) экспериментальной группы «VV1» и группы «Контроль облучения» подвергали воздействию β -излучения в области головы-шеи на ускорителе электронов «Novac-11» в дозе 18 Гр. Животные экспериментальной группы за 25-40 минут до облучения получали соединение VV1 внутрижелудочно (в/ж) в дозе 200 мг/кг, что соответствует $1/8 \text{ LD}_{10}$. Соединение VV1 высоко достоверно снижало гибель животных при развитии лучевого орального мукозита. В группе «Контроль облучения» к 30-м суткам выжило 20% животных, в то время как в экспериментальной группе выживаемость составила 87%. Оценка защитного эффекта по площади поражения слизистой языка и степени тяжести лучевого орального мукозита. Мыши-самцы $F_1(\text{CBA} \times \text{C57Bl/6j})$ ($n=67$) были разделены на три группы: Биологический контроль, группа «Контроль облучения» и экспериментальная группа «VV1». Животных подвергали аналогичному лучевому воздействию. В экспериментальной группе за 25-40 минут перед облучением животные получали соединение VV1 в/ж в дозе 200 мг/кг.

На 7, 9 и 11 сутки после лучевого воздействия у животных выделяли ткани языка и определяли степень тяжести лучевого орального мукозита согласно международной шкале RTOG/EORTC. Далее ткани языка окрашивали 1% раствором витального красителя толуидиновый синий. Тёмноокрашенные участки слизистой принимались за пораженные участки. Площадь поражения рассчитывали в программе IpSquare и оценивали относительно общей площади языка.

На 7 сутки наблюдалось незначительное различие в степени тяжести патологии: у животных в группе «Контроль облучения» и у животных экспериментальной группы, получивших перед облучением соединение VV1, степень тяжести лучевого орального мукозита составила $2,0 \pm 0,5$ и $1,6 \pm 0,5$, соответственно. Начиная с 9 суток, отмечалось статистически значимое снижение степени тяжести патологии у животных группы «VV1»: $3,4 \pm 0,5$ у незащищенных животных и $2,6 \pm 0,5$ у животных экспериментальной группы. На 11 сутки после лучевого воздействия значимое различие сохранялось: $2,7 \pm 0,9$ в группе «Контроль облучения» и $1,5 \pm 1,0$ у животных группы «VV1». В то же время, начиная с 7-х суток, наблюдалось высоко значимое различие в относительной площади поражения слизистой языка: на 7 сутки $1,9\% \pm 1,6\%$ у животных группы «Контроль облучения» и $0,2\% \pm 0,1\%$ у животных группы «VV1»; $43,7\% \pm 15,5\%$ и $18,0\% \pm 13,4\%$ на 9 сутки; $15,3\% \pm 19,5\%$ и $2,5\% \pm 7,2\%$ на 11 сутки соответственно.

Таким образом, на модели лучевого орального мукозита показана высокая перспективность нового соединения VV1 в качестве средства защиты слизистой оболочки полости рта от ионизирующего излучения.

ЗАДАЧИ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ РАДИОБИОЛОГИИ ДЛЯ РАЗВИТИЯ РАДИАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ И ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Н.И. Санжарова

Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии,
Обнинск, Россия, natsan2004@mail.ru

TASKS OF SCIENTIFIC RESEARCH IN THE FIELD OF RADIOBIOLOGY FOR THE DEVELOPMENT OF RADIATION TECHNOLOGIES IN AGRICULTURE AND FOOD INDUSTRY

N.I. Sanzharova

Russian Research Institute of Radiology and Agroecology, Obninsk, Russia,
natsan2004@mail.ru

Анализирую историю развития радиобиологии, необходимо отметить несколько принципиальных моментов, которые характеризуют ее как междисциплинарную область знаний: зарождение радиобиологии связано с величайшими научными открытиями в области ядерной физики, а интенсивное развитие - с военным и мирным использованием ядерных технологий; современная радиобиология представляет комплекс самостоятельных научных дисциплин, теоретические разработки которых открыли широкие перспективы для использования ионизирующих излучений в различных сферах деятельности человека. Начиная с 60-70-х годов прошлого века, применению достижений атомной науки и техники в сельском хозяйстве и пищевой промышленности уделялось особое внимание [1, 2]. На всех этапах развития радиационных технологий (РТ) отмечалась как острая потребность в проведении фундаментальных исследований в данной области, так и проблемы их широкого внедрения. В настоящее время развитие РТ и востребованность их использования в сельском хозяйстве и пищевой промышленности находятся на принципиально новом уровне и вносят свой вклад достижение целей устойчивого развития. Вопросы безопасности в сфере продовольствия и сельского хозяйства в мировом масштабе не только не утратили своей актуальности, но и, напротив, их решение приобретает все большее значение.

В сельском хозяйстве радиационные технологии могут быть использованы для повышения урожайности и улучшения качества продукции, ускорения развития культур, увеличения сроков хранения и снижения потерь при хранении, уничтожения патогенной микрофлоры и насекомых-вредителей, селекции новых сортов. В пищевой промышленности применение радиационных технологий позволяет сократить потери при транспортировке и хранении плодов и овощей; удлинить сроки хранения рыбы, мяса и продуктов их переработки; увеличить срок годности и реализации продуктов питания [3].

Научные основы применения РТ включают широкий спектр радиобиологических исследований. Сельскохозяйственная радиология изучает радиочувствительность сельскохозяйственных растений и животных, насекомых-вредителей, микроорганизмов и возбудителей болезней; влияние ИИ на физико-химические, биохимические, генетические, физиологические процессы; влияние на пищевую ценность, органолептические и функциональные свойства, структурную целостность, показатели безопасности продукции.

Международное агентство по атомной энергии (МАГАТЭ) в течение многих лет инициирует проведение исследований по селекции сельскохозяйственных культур с применением технологий радиационного мутагенеза. В базу МАГАТЭ включено более

трех тысяч мутантных сортов злаковых, фруктов, овощей и масличных культур. Использование ионизирующего излучения для индукции мутаций резко увеличило эффективность селекционного процесса, благодаря получению достаточная вариации целевого признака. Выявление механизмов данного эффекта связано с прогрессом молекулярной биологии. В настоящее время большинство исследований в области экспериментального мутагенеза направлено на генетические эффекты [4]. Совместное применение радиационных технологий, технологий редактирования генома и ускоренной селекции открывает широкие перспективы для решения задач быстрого прогресса в создании новых сортов сельскохозяйственных культур.

Радиационные технологии могут быть использованы для улучшения качества посевного материала, повышения урожайности сельскохозяйственных культур. Для разработки технологии предпосевного облучения семян проводятся научные исследования по определению диапазона стимулирующих доз и способности ионизирующих излучений ускорять рост и развитие выращенных из облученных семян растений. Были оценены значения стимулирующих доз для большинства зерновых, зернобобовых, овощных, бахчевых, эфиромасличных сельскохозяйственных культур и многолетних трав, а также определены условия, влияющие на эффективность предпосевного облучения [5]. Современные исследования позволили получить новые результаты о механизмах формирования эффекта, связанных с индукцией репарации ДНК, изменением фитогормонального баланса, антиоксидантной активности, стимуляцией фотосинтеза и др. [6]. Практическое использование технологии предпосевного облучения семян требует продолжения исследования как видовой и сортовой варибельности радиочувствительности культур, так и модифицирующих факторов, влияющих на стабильность проявления эффекта стимуляции.

Перспективной областью применения радиационных технологий является обеспечение фитосанитарной безопасности продукции. Высоки риски потери урожая от болезней различных сельскохозяйственных культур - от 10 до 40%, от вредителей - от 8 до 20%, что связано с появлением нехарактерного для России микробиологического и фитосанитарного видов заражения, обусловленного глобализацией рынка продовольствия, а также возможным целенаправленным распространением новых видов насекомых вредителей и возбудителей болезней.

Многочисленными исследованиями показана высокая эффективность предпосевная обработка семян сельскохозяйственных культур ионизирующим излучением для подавления фитопатогенной микрофлоры. К фитопатогенным микробам относятся возбудители инфекционных заболеваний у растений - бактерии, грибы и вирусы. Для практической реализации использования ионизирующего излучения в целях предпосевной обработки семян сельскохозяйственных культур разработана e-ventus технология с использованием ускорителя низкоэнергетических электронов [7]. В основе технологии лежит биоцидное действие электронов низких энергий, при этом электроны проникают в оболочку на такую глубину, которая позволяет исключить любое воздействие на зародыш и эндосперм. В результате исследований радиочувствительности возбудителей болезней растений выявлено, что споры различных возбудителей по своей чувствительности к облучению отличаются друг от друга в десятки и даже в сотни раз. Основными факторами, влияющими на резистентность патогенов к облучению, являются многоклеточность, многоядерность, плоидность и др. [8].

Исследования по влиянию ионизирующего излучения на процессы развития и размножения насекомых-вредителей стали основой для разработки технологий, направленных на их уничтожение в зерне и зернопродуктах, сушеных фруктах, овощах и пищевых концентратах. С практической точки зрения наиболее востребованной

является дезинсекция зерна и зернопродуктов, которая обладает рядом преимуществ, в частности: снижается применение химических средств; время обработки сокращается до 7-14 дней; достигается 100% гибель насекомых-вредителей зерна, при этом поражаются не только взрослые особи, но и другие стадии онтогенеза (яйца, личинки, куколки). Применение технологии базируется на изучении жизнеспособности насекомых при действии радиации. Ингибирующий эффект ионизирующих излучений на функциональную деятельность организма находится в прямой зависимости от дозы облучения. Установлено, что высокая эффективность технологии достигается при небольших дозах облучения - как правило в диапазоне 100-500 Гр [5]. Величина абсолютной летальной дозы (LD_{100}) зависит от вида насекомых и стадии развития и изменяется в широких пределах. Выявлена зависимость эффективности облучения от мощности дозы [9]. Преимущества радиационного метода дезинсекции заключаются в отсутствии в обработанных продуктах ядовитых фумигантов, применяемых при химическом способе дезинсекции; улучшении условий труда и техники безопасности для персонала; возможности создания полностью автоматизированного процесса.

Востребованной областью применения радиационных технологий является обеспечение микробиологической безопасности продукции. Значительное количества продукции сельского хозяйства (от 10 до 25%), особенно овощеводства и плодоводства, теряется в процессе хранения как в результате естественных потерь (испарение влаги, расходование органических веществ), так и вследствие порчи продуктов, вызванных гниением, связанным с жизнедеятельностью микроорганизмов. Эффективность применения ионизирующего излучения зависит от дозы облучения, вида и штамма микроорганизма, возраста и физиологического состояния, внешних условий (среды, температуры, мощности дозы и др.), а также от исходного числа клеток. При небольших дозах нарушается способность клеток к размножению. По мере увеличения дозы нарушается обмен веществ клетки и, наконец, наступает ее отмирание. Гибель живых клеток под влиянием ионизирующей радиации происходит вследствие существенных нарушений в нуклеиновом и других сторонах обмена, протекающих в клетке. Для практического применения выделяют три вида процесса обработки пищевых продуктов: 1 - радапертизация (подавляется практически вся микрофлора, и продукт может сохраняться при отсутствии повторного заражения весьма длительное время); 2 - радуризация (подавляется часть клеток, однако это позволяет удлинить в несколько раз обычные сроки хранения); 3 - радисидация — погибают все клетки определенного вида бактерий, а остальная микрофлора инактивируется лишь частично; это важно в борьбе с сальмонеллами и другими радиолабильными возбудителями пищевых отравлений [3]. Следует отметить, что обработка ионизирующим излучением при применении научно-обоснованных доз и условий облучения позволяет подавить жизнедеятельность микроорганизмов, не ухудшая качества продукции. С помощью радиационной обработки можно: продлить сроки хранения многих продуктов; сделать их более транспортабельными, что важно при увеличении логистики поставки продукции; существенно уменьшить потери; сохранить качество продукции, т.к. при облучении сопровождается небольшим поглощением энергии, что не вызывает существенных биохимических превращений. Радуризация и радисидация могут применяться для обработки мяса и мясопродуктов, рыбы и рыбопродуктов, продуктов морского промысла, плодов, ягод, овощей и продуктов их переработки [10]. Для развития радиационных технологий и обоснования безопасных условий их применения необходимо дальнейшее проведение

фундаментальных исследований в области радиационной микробиологии, радиационной биохимии и химии, радиационной биофизики.

Еще один эффект применения ионизирующего излучения для увеличения сроков хранения и годности пищевых продуктов заключается в подавлении прорастания и замедлении созревания за счет замедления ферментативных процессов. Этот прием используется для картофеля, лука, чеснока и некоторых фруктов при использовании низких и средних доз излучения. Из-за высокого содержания воды, особых условий хранения, транспортировки и обращения, потенциальные потери урожая клубнеплодных и луковичных культур могут быть очень высоки. Среди физиологических факторов, которые влияют на хранение клубней и лукович, прорастание оказывает наиболее негативное действие. Ингибирование прорастания в значительной степени зависит от применяемой дозы ионизирующего излучения, условий хранения, в частности от температуры и влажности, условий культивирования, времени посева, длительности периода покоя лукович с момента уборки урожая до момента облучения. Поглощенная доза, необходимая для удовлетворительного ингибирования прорастания варьирует в пределах от 20 до 150 Гр в зависимости от вышеупомянутых факторов и их взаимного действия [3].

Широкий спектр возможностей по повышению качества и безопасности сельскохозяйственной и пищевой продукции определяют перспективность применения радиационных технологий при решении задач продовольственной безопасности России.

Список литературы

1. Нерпин С.В., Прохоров В.М., Савин В.Н. Итоги использования изотопов и ядерных излучений в исследованиях по сельскому хозяйству // Атомная энергия. 1969. – С. 161-165
2. Рогачев В.И. Радиационная обработка пищевых продуктов— эффективный способ их сохранения для увеличения ресурсов питания человечества // Атомная энергия. 1969. – С. 165-169
3. Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности/под общей ред. Г.В. Козьмина, С.А. Гераськина, Н.И. Санжаровой - Обнинск:ВНИИИРАЭ, 2015. - 400 с.
4. Gupta C, Salgotra RK. Epigenetics and its role in effecting agronomical traits // *Frontiers in Plant Science*. 2022. - V. 13. - 925688
5. Гудков И.Н. Основы общей и сельскохозяйственной радиобиологии. - Киев:Изд-во УСХА, 1991. - 326 с.
6. Geras'kin S., Churyukin R., Volkova P. Radiation exposure of barley seeds can modify the early stages of plants' development // *J. Environ. Radioactivity*. 2017. - V. 177. - PP. 71-83
7. Olaf Röder, M. Jahn, T. Schröder, M. Stahl, M. Kotte, S. Beuermann. Die e-ventus Technologie – eine Innovation zur nachhaltigen Reduktion von Pflanzenschutzmitteln mit Empfehlung für Bio-Saatgut // *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 2009. doi:10.1007/s00003-009-0476-3
8. Sommer N. The effect of ionizing radiation on fungi // *Techn. Repts. Ser. Int. Atom. Energy Agency*, 1973. – No. 149. – P. 73-79
9. Санжарова Н.И., Лой Н.Н. Эффективность и перспективы применения ионизирующего излучения для фитосанитарной обработки зерна и зернопродуктов // *Пищевая промышленность*. 2022. - № 5. - С. 10-13
10. Food Irradiation: Principles and Applications. Molins, R.A. (Editor)/Wiley-Interscience, New York; 2001. 488 p.

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ И
МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС ПОСЛЕ
ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ С РАЗЛИЧНЫМИ
ФИЗИЧЕСКИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ**

Ю.С. Северюхин

Объединенный институт ядерных исследований

Исследование влияния корпускулярных видов излучений на поведение и морфологические изменения в центральной нервной системе является важной задачей космической и медицинской радиобиологии. Решение данной задачи способствует получению корректной оценке побочных эффектов адронной терапии и рисков межпланетных космических полетов.

В докладе представлен сравнительный анализ поведенческих реакций и морфологических изменений в головном мозге половозрелых крыс после воздействия гамма-излучения, протонов различных энергий и ионов углерода в дозе 1 Гр.

Установлено, что воздействие протонов с энергией 70 МэВ на головной мозг приводит к снижению двигательной активности крыс, росту относительного числа дистрофических изменений в коре, мозжечке и гиппокампе, развитию амилоидоза в переднем мозге и хроматолизу слоя эпендимоцитов на 30 сутки после облучения. Воздействие ионизирующих излучений с различными физическими характеристиками в одинаковой дозе приводит к снижению рабочей памяти и исследовательского поведения крыс. Поведенческие нарушения, дистрофические и морфо-функциональные изменения в гиппокампе, коре и мозжечке зависят от линейной передачи энергии и физических характеристик используемого пучка заряженных частиц. В отдаленные сроки после облучения ионами углерода ^{12}C наблюдается элиминация дистрофических нарушений в мозжечке крыс.

**ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ
В МАЛЫХ ДОЗАХ НА ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ И СЕКРЕТОРНЫЙ
ПРОФИЛЬ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА**

Д.Ю. Усупжанова, Т.А. Астрелина, И.В. Кобзева, Ю.Б. Сучкова,
В.А. Брунчуков, А.А. Расторгуева, В.А. Никитина,
Е.Е. Ломоносова, А.С. Самойлов*

ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва
*e-mail: usupzhanova94@mail.ru

**EVALUATION OF THE EFFECT OF LOW DOSES X-RAY RADIATION
ON THE IMMUNOLOGICAL AND SECRETORY PROFILE
MESENCHYMAL STROMAL CELLS OF HUMAN**

D.Yu. Usupzhanova, T.A. Astrelina, I.V. Kobzeva, Yu.B. Suchkova,
V.A. Brunchukov, A.A. Rastorguyeva, V.A. Nikitina,
E.E. Lomonosova, A.A. Samoylov*

State Research Center Burnasyan Federal Medical Biophysical Center FMBA of Russia,
Moscow
*e-mail: usupzhanova94@mail.ru

Учитывая неизбежно растущее количество источников малых доз (от 10 до 100 мГр) ионизирующего излучения (ИИ) в современном мире, точная оценка рисков, связанных с облучением человека в малых дозах, является важной задачей общественного здравоохранения. Мезенхимальные стромальные клетки (МСК), обладающие способностью к самоподдержанию и потенциальными к дифференцировке, и, таким образом, являющиеся регенеративным резервом взрослого организма, выступают перспективной моделью для изучения эффектов облучения.

В исследовании иммунологического профиля МСК слизистой ткани десны человека показано, что экспрессия поверхностных антигенов CD90, CD73, CD105 и CD44 изменяется под влиянием ИИ в дозах 50, 100 и 250 мГр в ранние сроки культивирования после облучения (до 16 дней). Наблюдаемые эффекты указывают на изменения важнейших функциональных характеристик МСК, а сами поверхностные антигены представляются перспективным критерием оценки последствий воздействия ИИ.

В исследовании секреторного профиля МСК показано, что малые и средние дозы ИИ приводят к развитию противоположных воспалительных реакций в ранние сроки культивирования после облучения (48 часов): облучение малыми дозами 50 и 100 мГр приводит к повышению концентрации ИЛ-6 и снижению концентрации ИЛ-8 в кондиционированных средах клеток, в то время как для средних доз 250 и 1000 мГр наблюдается обратная ситуация. В отдаленные сроки культивирования после облучения (43 и 64 день) для всех исследуемых облученных групп МСК показано снижение концентраций ИЛ-6 и ИЛ-8, свидетельствующее об угнетении их функциональной иммуномодулирующей активности.

Таким образом, сделан вывод о влиянии малых доз рентгеновского излучения на важнейшие характеристики МСК, в частности, в отдаленные сроки культивирования после облучения эффекты малых доз сопоставимы с эффектами средних доз ИИ и, в целом, свидетельствуют об угнетении функциональной активности клеток.

КОСМИЧЕСКАЯ РАДИАЦИЯ: 60 ЛЕТ В ЭПИЦЕНТРЕ ИССЛЕДОВАНИЙ НАУЧНОГО СОВЕТА ПО РАДИОБИОЛОГИИ

И.Б. Ушаков

ФГБУ «ГНЦ РФ – Федеральный медицинский биофизический центр
им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, Москва, Россия, ул. Живописная, д. 46, 123098,
iushakov@fmbcfmba.ru

SPACE RADIATION: 60 YEARS IN THE EPICENTER OF RADIOBIOLOGY SCIENTIFIC COUNCIL RESEARCH ACTIVITY

I.B. Ushakov

State Scientific Center of the Russian Federation – Federal Medical Biophysical Center
Named After A.I. Burnasyan of FMBA of Russia, Moscow, Russia, Zhivopisnaya str., 46,
123098, iushakov@fmbcfmba.ru

Космическая радиобиология (КРБ) – одна из актуальных ветвей фундаментальной и прикладной радиобиологии. Космическая радиация всегда была и ныне является значимым серьёзным барьером при освоении человеком космического пространства.

Пантеон основоположников КРБ не мал: Саксонов Павел Петрович, Антипов Всеволод Васильевич, Давыдов Борис Ильич, Гюрджян Армен Арамович, Лебединский Андрей Владимирович, Григорьев Юрий Григорьевич, Даренская Наталья Георгиевна, Нефёдов Юрий Герасимович. Было установлено повреждающее действие космической радиации. Первые статьи и затем книги по КРБ начали выходить с 1960 года, практически одновременно с началом издания профильного журнала «Радиобиология». Пионеры КРБ оценивали биологические эффекты разных видов излучений, факторы дозы, мощности дозы, относительной биологической эффективности (ОБЭ) и многое другое.

Краткое изложение проблематики КРБ представлено в докладе по следующему плану: радиационные условия в ближнем и дальнем космосе; особенности дозиметрии космической радиации; основные последствия для человека; малые дозы и мозг; комбинированные воздействия; экстраполяция данных к человеку; нормирование космической радиации; средства повышения резистентности и медико-биологической защиты; перспективные направления КРБ.

Источники космической радиации многообразны. Они включают РПЗ, это в основном протоны и электроны с коэффициентом качества (КК) от 1.5 до 2.5. Далее солнечные космические лучи (СКЛ), также в основном протоны до 1000 МэВ с КК до 2.0. И третья важнейшая компонента – галактические космические лучи (ГКЛ), в состав которых входят ускоренные ионы от водорода и гелия и далее практически всей периодической таблицы химических элементов с высокими величинами КК – до 5 и выше. Смоделировать такой непростой космический «радиационный коктейль» в наземном эксперименте невозможно.

Доза на борту МКС в 200 раз превышает таковую на Земле. За годовой полет это уже до 300 мЗв, а профессиональный предел космонавта, как и персонала группы А – 1000 мЗв. Для межпланетных условий дозы облучения составят величины 1,4 мЗв на Луне (примерно в 600 раз выше, чем на Земле) и чуть больше в полете к Марсу – 1,8 мЗв. Дозиметрия космических излучений чрезвычайно трудна вследствие многих причин: перепад доз по отсекам станции и даже телу до 2-х раз, анизотропия, вклад нейтронов до 40 процентов, необходимость определения КК и практически полная пока непредсказуемость момента возникновения солнечных протонных событий (СПС).

Вклад радиационного фактора в космосе, конечно, выделить очень сложно. Глобальный и самый главный показатель – смертность – не выявил достоверного влияния космических полетов на здоровье, в том числе и по онкологическим нозологиям. Результат получен независимо в наших и американских эпидемиологических исследованиях. Риск смерти в когорте космонавтов оказался достоверно ниже по сравнению с референтной группой.

В актуальной проблематике современных радиобиологических исследований в этой области прежде всего изучаются эффекты хронических, квазихронических и фракционированных длительных облучений. Во-вторых, продолжает исследоваться специфика нарушений от тяжелых заряженных частиц (ТЗЧ). Это направление широко представлено в работах Е.А. Красавина и его коллег из лабораторий Объединенного института ядерных исследований (ОИЯИ). Третье – комбинированные модифицирующие эффекты других факторов космоса, и прежде всего невесомости (Штемберг А.С. и соавт.). Большинство исследователей так или иначе изучают механизмы нарушений ЦНС на всех уровнях интеграции. Все радиобиологи сталкиваются с проблемой экстраполяции своих экспериментальных данных на человека. Здесь заложены и самые большие количественные ошибки в оценке общего радиационного эффекта.

Неплохим научным примером является проект «Гамма-бриз», выполненный в ИМБП РАН (2008-2010 гг.), в котором моделировалось на приматах облучение во время будущей марсианской экспедиции. При сравнительно невысоких дозах облучения существенно снижалась поведенческая операторская активность обезьян. Аналогичные исследования, по мнению ведущих космических радиобиологов, становятся мировым приоритетом.

Обширнее по объему, естественно, экспериментальные исследования на грызунах. При всех дозах и сроках преобладали пограничные сдвиги, отражающие различные варианты физиологической нормы нейронов. Они обратимы и при определенных условиях на их основе могут возникать различные формы адаптационных или альтеративных изменений. Облучение вызывало более выраженные, чем в возрастном контроле, изменения соотношений различных типов нейронов, происходящие в пределах функциональной нормы: нейроны сохраняли целостность ядра, ядрышка и цитоплазмы; сдвиги обратимы. В течение жизни происходило снижение размеров нейронов: облучение в дозах 10 и 100 сГр усиливало этот процесс, а воздействие в дозах 20 и 50 сГр не изменяло. Практически все изучаемые показатели были более лабильными при самой малой исследуемой дозе 10 сГр, что вероятно свидетельствует о «раздражающем» эффекте малых доз применительно к мозгу.

Важнейшим для дальнейшего проникновения человека в космос является обоснование разумных безопасных пределов облучения космонавтов. Трудности этого направления заключаются в упоминавшемся триедином характере состава космической радиации. Нормирование излучений с высокими значениями ЛПЭ и ОБЭ, широкий диапазон мощностей доз протонов и перепады дозы по телу космонавта от 2 до 20 раз, представляет значительную проблему. В мае 2021 года появился новый нормативный документ, утвержденный Роскосмосом и ФМБА. В этом документе предел дозы за год снижен с 500 до 300 мЗв. Это самый малый годовой космический предел в мире. Примечательно, что в настоящее время на МКС среднетканевая доза на костный мозг может достигать 230 мЗв.

В общей структуре направлений повышения радиорезистентности космонавтов в дальнем космосе учтено многое, но в будущем предстоит приложить немало усилий для доработки большинства элементов. Существенно, что противолучевые средства в

космосе не при каких условиях не должны вызывать побочных реакций, снижать работоспособность человека, не должны влиять на координацию движений и остроту зрения, нарушать иммунитет и снижать устойчивость организма к различным экстремальным факторам. Вариантов облучения в дальнем космосе столь много, что единственного эффективного радиозащитного средства просто не существует в принципе. Упор в поиске новых средств следует сделать на радиомодуляторы и радиомитигаторы, усиливающие репаративные постлучевые процессы.

В списке современных научных трендов в этой области выделяются: клеточные реакции на космическую радиацию, особенно ТЗЧ; онкогенез; оценка пределов не выше 3%-го риска смерти, вызванной облучением, а также риски актуальных нейродегенеративных заболеваний и гисто-биохимические исследования гиппокампа, лобной доли, коры и мозжечка при невеликих дозах до 25-50 сГр. Кроме того, актуальны исследования экзосом как биомаркеров воздействия ТЗЧ, изучение различных связей между воспалительными, гипоксическими, радиационными реакциями и старением. Важен поиск новых поведенческих моделей для экстраполяции к деятельности человека, оценка комбинированного воздействия КР и моделируемой микрогравитации, установление биомаркеров индивидуальной радиочувствительности и разработка новых фармакологических средств, особенно противовоспалительных и антиоксидантов.

Нужны оригинальные технологии отбора космонавтов, обладающих повышенной радиорезистентностью, основанные на оценке, например, дуплексных разрывов ДНК, а также на надежных фенотипических показателях резистентности. Примерный алгоритм создания таких технологий может быть следующим: клетки из биоптата или крови человека подвергаются тестирующему облучению, в идеале – космической радиацией, затем анализируются молекулярно-генетические и клеточные реакции и проводится биоинформационное выделение наиболее радиорезистентных людей.

Дальнейшее проникновение человека в космос связано с преодолением радиационного барьера уже нового для человека спектра. Для его последовательного преодоления остро необходима всеобъемлющая концепция радиационной безопасности человека во внеорбитальных полетах. Новую концепцию можно назвать «концепцией выбора меньшей суммы зла». Принцип ALARA не отменяется, но ставится на грань возможного соблюдения. В бортовой аптечке необходимо иметь средства, которые будут являться некой современной к моменту полета «суммой радиобиологии», использующей весь арсенал средств противодействия – радиопротекторы, радиомитигаторы, радиомодуляторы, гибернация, искусственное магнитное поле и т.д. Экипаж с врачом-радиобиологом должен быть подобран из наиболее радиоустойчивых космонавтов (по гено- и фенотипическим критериям).

Глубокая благодарность современным представителям космической радиобиологии М.В. Васину, А.А. Иванову, Е.А. Красавину, А.Н. Осипову, В.П. Фёдорову, А.В. Шафиркину, А.С. Штембергу и их коллегам. Именно благодаря совместной работе удастся продолжать передовые космордиобиологические исследования.

Таким образом, современная космическая радиобиология находится на переломном этапе выработки новых путей развития и получения прорывных результатов. Дальнейшую роль Научного совета РАН по радиобиологии и всего Радиобиологического общества РАН трудно переоценить.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФАКТОРОВ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ ПОСЛЕДСТВИЯ АВАРИЙ НА ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС И АЭС ФУКУСИМА 1

С.В. Фесенко

ФГБНУ Российский Институт Радиологии и Агрэкологии, Обнинск, Российская
Федерация

A COMPARATIVE ANALYSIS OF FACTORS DETERMINING THE CONSEQUENCES OF ACCIDENTS AT CHERNOBYL AND FUKUSHIMA Dai-ichi NPPs

S.V. Fesenko.

Russian Institute of Radiology and Agroecology, Obninsk, Russian Federation
Corwin_17F@mail.ru

Последствия крупномасштабных выбросов радионуклидов в окружающую среду зависят от большого числа разнохарактерных факторов, включая особенности аварийного выброса (продолжительность, активность и состав радионуклидов в выбросе), метеорологические условия во время выброса, время года (определяющее стадию развития растений), свойства окружающей среды, методы ведения сельского хозяйства, наличие крупных населенных пунктов в зоне воздействия выброса, пищевые привычки и образ жизни населения в пострадавших районах, осуществление защитных действий. Важное значение с точки зрения оценки последствий аварий имеют и критерии, используемые для оценки радиологических последствий и защиты населения.

Данные по выбросам радионуклидов, определяющих последние аварии для АПК, атмосферу в результате крупных радиоактивных аварий на Чернобыльской АЭС и АЭС «Фукусима-1» приведены в таблице 1.

Таблица 1 — Выброс радионуклидов в атмосферу, ТБк

Радионуклиды	Чернобыль	Фукусима
^{131}I	1 760 000.	100 000-400 000
^{137}Cs	~85 000	7 000-20 000
^{134}Cs	~47 000	8 300-20 000
^{90}Sr	10 000	3,3-140
^{132}Te	1 150 000	760-1 620
Изотопы Pu	6 100	0,0035-1,2
^{95}Zr	196 000	17
$^{141+144}\text{Ce}$	212 000	11
^{106}Ru	>73 000	0,002

Для аварий на Чернобыльской АЭС и АЭС Фукусима-1 ^{131}I , ^{134}Cs и ^{137}Cs были наиболее важными дозообразующими радионуклидами. При этом краткосрочные эффекты для АПК определялись ^{131}I , а долгосрочные последствия - изотопами цезия. Выброс радиоактивного цезия в атмосферу после аварии на Чернобыльской АЭС были существенно выше, чем после аварии на АЭС «Фукусима-1». Чернобыльская АЭС находится в центре Европейской части СССР и практически все радионуклиды выпали

на континенте, загрязнив сельскохозяйственные угодья в более чем 20 странах. В случае аварии на АЭС Фукусима 1 около половины радионуклидов, выброшенных в окружающую среду, выпали на поверхность океана и были достаточно быстро депонированы в донных отложениях, что привело к уменьшению последствий аварии. Кроме этого высокая доля ^{134}Cs по сравнению с ^{137}Cs в выбросе АЭС «Фукусима-1» (отношения 0,55:1,0 для Чернобыльской аварии и 1:1 для аварии на АЭС «Фукусима-1») означала, что суммарная активность радиоактивного цезия в окружающей среде снижалась быстрее после аварии на АЭС «Фукусима-1». Вследствие высокой неоднородности выпадений средние значения выпадений ^{137}Cs в загрязненных населенных пунктах эвакуированных (или выведенных из хозяйственного использования) были схожи, но уровни радиоактивного загрязнения на не отселенных (не эвакуированных) районах были гораздо выше в случае аварии на Чернобыльской АЭС. Все эти факторы оказали влияние на то, что последствия аварии на Чернобыльской АЭС были существенно тяжелее последствий аварии на АЭС «Фукусима-1».

Особенности территорий, подвергшихся загрязнению после рассматриваемых аварии приведены в таблице 2. Чернобыльская авария произошла, когда начался вегетационный период, тогда как авария на АЭС «Фукусима-1» произошла в марте 2011 года, то есть до начала периода активной вегетации растений. Таким образом в период интенсивных выпадений изотопов йода и цезия при осаждении радиоактивного цезия вегетативные части сельскохозяйственных культур были под землей и не подверглись аэроальному загрязнению.

Таблица 2 — Природные особенности территорий, подвергшихся интенсивному воздействию радиационных аварий

Факторы	Чернобыль	Фукусима-1
Время года (сезон)	В начале вегетационного периода	До вегетационного периода
Плотность населения	Средняя	Высокая
Рельеф местности	Равнинный, лесистый, сельскохозяйственный	Гористая: залесенные склоны и прибрежные водосборы
Интенсивность АПК	Средняя	Высокая
Критические продукты	Молоко, мясо, зерно, картофель	Рис, фрукты, листовые и корнеплодные культуры, зерно,
Латеральный перенос	Низкий	Высокий

Большая часть загрязненного ландшафта вокруг Чернобыля представляет собой выравненные ландшафты сельскохозяйственных угодий с относительно небольшими поселениями и лесами и малонаселенна. В противоположность этому, территории вокруг АЭС «Фукусима-1» относятся к сложному ландшафту, включая ~ 70% леса, расположенных на горных водосборах, а сельскохозяйственные угодья ограничены нижними склонами и долинами, где много рисовых полей. Среди крупных городов в зоне Чернобыльской АЭС находятся г. Припять (60 тыс.) на расстоянии 3 км, Чернобыль (14 тыс. – 15 км), Киев (2.5 млн – 100 км), а в районе АЭС Фукусима находятся район Футаба (3-45 км), город Фукусима (260 000) на расстоянии 60 км, а район большого Токио (35 млн) находится на расстоянии 180 км.

После Чернобыльской аварии высокие концентрации цезия отмечались в пищевых продуктах, произведенных в природных и полуприродных экосистемах. Это

потребовала срочное внедрение защитных мер в сельском хозяйстве Великобритании, Австрии, Германии, Норвегии, Швеции и других стран. После аварии на АЭС «Фукусима-1» это явление также отмечалось, хотя и в гораздо меньшей степени.

Дозы облучения населения являлись одним из основных факторов, характеризующих тяжесть последствий радиоактивного загрязнения, а оценка вклада внутреннего и внешнего облучения населения является важным шагом в планировании защитных и реабилитационных мер (Таблица 3). Важность внутреннего пути облучения, как для продукции сельского хозяйства, так и для продуктов леса, сильно зависит от особенностей почвенного покрова. После аварии на АЭС «Фукусима-1», ограничения на производство продуктов питания и мониторинг продуктов питания, в сочетании с более низкими коэффициентами перехода цезия из почвы в растения, привели к тому, что дозы внутреннего облучения населения были, как правило, невелики. Таким образом, оба пути облучения играли важную роль после Чернобыльской аварии, тогда как после аварии на АЭС Фукусима I вклад внешнего облучения доминировал. Экологические факторы, определяющие радиологические последствия этих аварий, приведены в таблице 3.

Таблица 3 — Сравнение факторов, влияющих на значимость путей облучения в регионах, подвергшихся интенсивному воздействию радиационных аварий.

Параметр	Чернобыльская АЭС	АЭС Фукусима I
Фракция торфяно-болотных почв	От умеренной до высокой	Низкая
Фракция плодородных почв	Низкая/умеренная	Высокая
Содержание обменного К	От низкого до умеренного	Близко к высокому
Корневое поглощения	От умеренного до высокого	Низкое
Поступление в животным	От среднего до высокого	Низкое
Потребление местной пищи	Высокое	Низкое
Потребление продуктов леса	От умеренной до высокой	Умеренное

После обеих аварий были введены ограничения на производство продуктов питания в пострадавших районах и потребление пищевых продуктов выше допустимых уровней. Мониторинг продуктов питания проводился на национальном, региональном и локальном уровнях для предотвращения потребления продуктов с концентрацией радиоактивного цезия выше допустимых уровней.

В общем случае последствия радиоактивного загрязнения оцениваются на основе критериев, используемых для обеспечения безопасности населения и окружающей среды. После аварии на Чернобыльской АЭС несколько сотен тысяч человек жили в районах, в которых были установлены индивидуальные годовые эффективные дозы более 1 мЗв. Поэтому было принято решение о реабилитации загрязненных земель, чтобы уменьшить дозы облучения и обеспечить производство продуктов питания с загрязнением ниже допустимых уровней. Эта цель была тесно связана с обеспечением устойчивой экономической деятельности. Возвращение людей в эвакуированные районы не было приоритетом. После аварии на АЭС «Фукусима-1» основное внимание было уделено восстановлению приемлемых условий для полностью функционирующего общества во всех пострадавших районах, включая те, которые были эвакуированы. Эта деятельность включала все действия по восстановлению экологических, социальных и экономических функций пострадавших районов.

Дозы облучения населения, используемые для оценки последствий радиоактивного загрязнения, нельзя измерить, поэтому с этой целью используются непосредственно измеряемые величины, такие как мощность поглощенной дозы в воздухе или плотность выпадений. После Чернобыльской аварии в качестве критерия для необходимости дезактивации населенных пунктов использовалась мощность 200 мкР/ч, что соответствовало эффективной дозе 2,2 мкЗв/ч на 1989 год. Допустимая дополнительная мощность дозы внешнего облучения, принятая после аварии на АЭС «Фукусима-1» была 0,19 мкЗв/ч, (по данным измерений летом 2013 года, когда проводилась дезактивация). Эта мощность дозы соответствовала ~ 50 кБк/м² для ¹³⁷Cs и ~ 20 кБк/м² для ¹³⁴Cs. Таким образом, критерий 2,2 мкЗв/ч, используемый в СССР в 1989 году (через 3 года после аварии), был более чем в десять раз выше, чем аналогичный критерий, примененный в Японии осенью 2011 года.

После аварии на Чернобыльской АЭС было введено зонирование по плотности загрязнения почв ¹³⁷Cs, при этом территории рассматривались как загрязненные при плотности выпадений 37 кБк/м². После аварии на АЭС «Фукусима-1» загрязненная территория была разделена на специальную зону дезактивации, которая была разделена на три подрайона и зону интенсивного загрязнения, которая не была эвакуирована, и где дополнительная годовая эффективная доза, по прогнозам, также могла быть выше 1 мЗв.

Специальная зона дезактивации включала три подзоны SDA1, SDA2 и SDA3. SDA1, в пределах которой ожидаемая дополнительная годовая доза была ниже 20 мЗв (возможно снятие ограничения на проживание в ближайшее время), SDA2, в пределах которой дополнительная годовая доза составляла от 20 до 50 мЗв (проживание запрещено) и SDA 3, в которой дополнительная годовая доза превышает 50 мЗв (возвращение населения в невозможно течение длительного времени). Для обеих аварий долгосрочной целью реабилитации является индивидуальная дополнительная годовая эффективная доза 1 мЗв.

Потенциальные радиологические последствия аварии на АЭС «Фукусима - 1» для населения и площадь пострадавших территорий были намного ниже, чем после аварии на Чернобыльской АЭС, но масштабы защитных и реабилитационных мероприятий были вполне сопоставимы. Причины этого заключаются в следующем:

- радиологические критерии восстановления, применяемые в Японии, были ниже, чем те, которые применялись в СССР, и, следовательно, были сопряжены с относительно более высокими расходами на достижение соответствующих дозовых критериев.

- допустимые уровни содержания радионуклидов, принятые в Японии, также были существенно ниже использованных в Советском Союзе, что также предопределило более высокие расходы на проведение реабилитационных мероприятий в АПК.

Таким образом, критерии безопасности, принятые после радиационных аварий на Чернобыльской АЭС и АЭС Фукусима, а также подходы к реабилитации загрязненных территорий повлияли на оценку реальных последствий этих аварий.

Представленные данные позволяют сделать вывод, что при оценке последствий радиационных аварий, необходимо учитывать все многообразие факторов, влияющих на их проявление, включая факторы, определяющие формирование зоны загрязнения, экологические особенности загрязненных территорий, меры по обеспечению безопасности пострадавшего населения, а также радиологические, социальные и экономические критерии, используемые для оценки этих последствий.

МЕДИЦИНСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ИНГИБИТОРОВ NOS В ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ И КОСМИЧЕСКОЙ РАДИОБИОЛОГИИ

*М.В. Филимонова, В.А. Рыбачук, А.О. Косаченко, К.А. Николаев, В.М. Макаrchук,
Л.И. Шевченко, А.А. Шитова, О.В. Солдатова, А.С. Филимонов*
МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России,
Обнинск, Россия, e-mail: mari_fil@mail.ru

Резюме. В лаборатории радиационной фармакологии МРНЦ им. А.Ф. Цыба продолжают исследования возможностей практического применения ингибиторов NOS, в том числе, в лучевой терапии и космической радиобиологии.

Ключевые слова: лучевые повреждения, осложнения радиотерапии, селективная защита нормальных тканей, ингибиторы синтаза оксида азота.

MEDICAL ASPECTS OF THE APPLICATION OF NOS INHIBITORS IN RADIOTHERAPY AND SPACE RADIOBIOLOGY

*M.V. Filimonova, V.A. Rybachuk, A.O. Kosachenko, K.A. Nikolaev, V.M. Makarchuk,
L.I. Shevchenko, A.A. Shitova, O.V. Soldatova, A.S. Filimonov*

A. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Center of Radiology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia,
e-mail: mari_fil@mail.ru

Summary. Lab of radiation pharmacology A. Tsyb MRRC continues to study the possibilities of NOS inhibitors practical application, including in radiation therapy and space radiobiology.

Key words: radiation damage, complications of radiotherapy, selective protection of normal tissues, inhibitors of nitric oxide synthase.

Проблема создания высокоэффективных и безопасных радиопротекторов не теряет своей актуальности. Так, освоение ближнего и дальнего космоса, применение радиотерапии в онкологии, как и всё более широкое использование ионизирующих излучений в диагностике – требует применения средств, безопасных не только у здоровых добровольцев, но и у лиц разного возраста, физического состояния, включая пациентов с хроническими и онкологическими заболеваниями.

Одним из целесообразных путей решения проблемы может стать создание радиозащитных средств на основе селективных ингибиторов синтаза оксида азота (NOS). В лаборатории радиационной фармакологии МРНЦ им. А.Ф. Цыба продолжают научно-прикладные исследования, убедительно свидетельствующие о перспективности такого подхода. Так, нами показано, что ряд селективных ингибиторов NOS - производных изотиомочевины (ИТМ), впервые синтезированных в лаборатории, обладают значительным радиозащитным потенциалом с ФИД 1,4-1,8. Эти соединения высокоэффективны при тотальном облучении лабораторных животных в летальных дозах. Кроме того, гипоксический механизм противолучевого действия позволяет этим соединениям селективно защищать здоровые ткани при радиотерапии солидных опухолей. В частности, способность одного из них, соединения Т1023, к профилактике острых и поздних лучевых повреждений продемонстрирована нами на моделях радиотерапии саркомы М1 у крыс, солидной карциномы Эрлиха у мышей, лучевого пневмофиброза у крыс.

В настоящее время мы исследуем возможности применения новых производных ИТМ в качестве средств профилактики осложнений радиотерапии на моделях лучевого мукозита, цистита, ректита у лабораторных животных. Получены результаты пилотных

исследований. Так, на модели радиационно-индуцированного мукозита у мышей новый ингибитор NOS, использованный превентивно внутрижелудочно в высоко безопасных дозах, не только значимо повышал выживаемость животных, локально облучённых в области головы-шеи, но и значимо снижал клинико-морфологическую тяжесть и масштаб лучевого поражения слизистых.

Применение селективных радиопротекторов представляется перспективным и в качестве средств профилактики осложнений лучевой терапии в области малого таза. На разработанных моделях радиационно-индуцированного цистита и ректита у лабораторных мышей и крыс новый ингибитор NOS защищал слизистую мочевого пузыря, толстой и прямой кишки, снижая выраженность радиационно-индуцированных повреждений и улучшая общее состояние животных.

Кроме того, в экспериментах на мышах нами начато изучение возможности применения ингибиторов NOS в профилактике лучевых патологий, индуцированных протонами с энергиями до 150 МэВ и на пике Брэгга (78-104 МэВ). Показано, что INOS-A при превентивном в/ж введении в безопасной дозе (200 мг/кг; 1/11 ЛД₁₀) обеспечивает эффективную профилактику ОЛБ, индуцированную протонами (ФИД – 1.3-1.4). Применение нашего радиопротектора значимо повышало выживаемость животных и эффективно противодействовало развитию как костномозговой, так и кишечной форм ОЛБ

В то же время, проведение клинических исследований эффективности противолучевых средств не представляются возможными без обоснования и верификации фармакологических маркеров их специфической активности, позволяющих экстраполяцию противолучевых эффектов с животных на человека. В этой связи нами обоснован один из возможных маркеров противолучевой эффективности для гипоксических радиопротекторов. В экспериментах на крысах изучено влияние гипоксического радиопротектора T1023 на динамику содержания лактата в крови и компенсаторные сдвиги в газовом и кислотно-основном составе крови, препятствующие развитию ацидоза. Сопоставление этих данных с кардиоваскулярными и радиобиологическими эффектами T1023 показало наличие выраженной корреляции между противолучевым действием T1023 и индуцированной им лактатемией, которая компенсировалась физиологическим балансом газового и кислотно-основного состава крови.

Таким образом, полученные результаты исследований ингибиторов NOS, созданных в лаборатории радиационной фармакологии МРНЦ им. А.Ф. Цыба, свидетельствуют об их значительном потенциале практического применения, в том числе, в лучевой терапии и космической радиобиологии.

СОВРЕМЕННАЯ ЛУЧЕВАЯ ТЕРАПИЯ: ПРЕДИКТОРЫ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Е.В. Хмелевский

МНИОИ им. П.А. Герцена, филиал НМИЦ радиологии Минздрава РФ (Москва), Россия, e-mail khmee53@mail.ru

MODERN RADIOTHERAPY: PREDICTORS OF RADIOSENSITIVITY

Khmelevsky E. V.

MNIOI P. A. Gertsen filial of NMIC radiology of Ministry of health of the Russian Federation (Moscow), Russia e-mail khmee53@mail.ru

Поиск предикторов индивидуальной радиочувствительности остается одной из самых насущных проблем радиационной онкологии. К факторам, влияющим на индивидуальную радиочувствительность нормальных тканей (как минимум, отчасти это касается и радиочувствительности опухолей), относят генетические особенности, конституциональные и клинические признаки (пол, возраст, сопутствующие заболевания), функционально-метаболические факторы (включая алиментарные, pO_2/pCO_2), особенности образа жизни (вредные привычки, социальные факторы). Вклад, собственно, генетических особенностей в постлучевую токсичность по представлению ряда исследователей может достигать 40% (1, 2, 3). Наиболее очевидно значение известных генетических синдромов, связанных с нарушениями репарации ДНК, контроля репликации и пролиферации (таб.1)

Табл.1. Генетические синдромы, ассоциированные с нарушением радиочувствительности

Синдром/заболевание	Мутация гена	Функция гена
Атаксия-телеангиоэктазия	ATM	Репарация ДНК
Синдром Li-Fraumeni	TP53	Контроль пролиферации
Ретинобластома	RB1	Контроль репликации ДНК
Нейрофиброматоз I	NF1	Инактивация RAS
Анемия Fanconi	FANCD1/BRCA2	Репарация ДНК

Гораздо менее значимыми оказались результаты поиска генетических альтераций в панелях «генов-кандидатов», отвечающих за регенерацию (BRCA2, P53, P16 XRCC1, VEGF, SLC36A4), воспаление (TGFβ1, IFNκ, TNFα, HSPB1), окислительный стресс/детоксикацию (SOD, TNXR2, HSD17B2) (3, 4). Не оправдались пока и надежды на проекты полногеномных исследований (GWAS – Genome-wide association studies) по выявлению значимых полиморфизмов. При этом, основными проблемами, препятствующими валидации GWAS в клинике остаются плохая воспроизводимость результатов из-за не стандартизованности исследований, а так же гетерогенности исследуемых популяций (включая варибельность SNP в расовых/этнических группах). Значимых эпигенетических, посттранскрипционных и посттрансляционных маркеров радиотоксичности или их комбинаций, включая микроРНК, белковые маркеры крови, обнаружить пока не удалось.

Немалое число исследований посвящено попыткам внедрения в клиническую практику методов индивидуальной оценки радиоиндуцированной гибели клеток: в лимфоцитарных тестах (например, RILA – определение радиоиндуцированного апоптоза CD8 Т-лимфоцитов, микроядерный тест, γ-H2AX-тест) или радиоиндуцированной гибели фибробластов. Как и в случае с генетическими и иными негенетическими биомаркерами радиотоксичности, главной проблемой клинической адаптации данных тестов оказалась низкая воспроизводимость результатов (таб.2)

Табл.2. Радиоиндуцированная гибель клеток, как предиктор клинической радиотоксичности.

Авторы	Год	Кл. модель	Характер токсичности	Корреляция
Brock W. et al.	1995	фибробласты	Острая токсичность Телеангиэктазии	НЕТ ДА
Johansen J. et al.	1996	фибробласты	Выраженная эритема Телеангиэктазии Фиброз	НЕТ НЕТ ДА
Russell N. et al.	1998	фибробласты	Фиброз	НЕТ
Wistop A. et al.	2005	лимфоциты	Поздняя токсичность	ДА (только для гиперчувств.)
Greve B. et al.	2009	лимфоциты	Фиброз	НЕТ
Bordon E. et al.	2010	лимфоциты	Поздняя токсичность	ДА
Talbot Ch, et al.	2019	лимфоциты	Острая токсичность	НЕТ
Собств. данные		лимфоциты	Фиброз	ДА

В течение почти 20 лет ведутся поиски и общих, и опухоль-специфических панелей генной экспрессии, ассоциированных с радиочувствительностью злокачественных новообразований. Так, только при раке молочной железы, активно изучались предсказательные способности и хорошо известных коммерческих продуктов – Oncotype DX, MammaPrint, и целого ряда иных генных комбинаций (таб.3)

Табл.3. Сигнатуры генной экспрессии, как возможные предикторы эффективности лучевой терапии рака молочной железы

Авторы	Год	Наимен. Сигнатуры	К-во генов
Torres-Roca et al.	2005	RSI	10
Creike B. et al.	2009	-	111
Tramm T. et al.	2014	-	7
Speers C. et al.	2015	RSS	51
Боженко ВК и др.	2016	Глобал-Индекс	24
Sjostrom M. et al.	2018	SSP	248

Несмотря на то, что отдельные исследованные панели генной экспрессии оказались способны дополнить традиционные клиничко-морфологические методы оценки риска прогрессирования заболевания, в целом, не выявлено специфических предикторов эффективности лучевой терапии, пригодных для проспективных клинических исследований. Основные причины неудач связаны с неоднородностью тренировочных когорт пациентов, отличиями подготовки образцов и методов оценки генной экспрессии, во многом определяющих низкую степень воспроизводимости результатов. Среди негенетических биопредикторов радиочувствительности важное клиническое значение приобрело лишь выявление гиперметилирования MGMT, ассоциирующееся с повышением радиочувствительности глиобластом.

Возможности определения индивидуальной радиочувствительности опухолей по характеру радиоиндуцированной гибели культивируемых клеток вплоть до настоящего времени не выглядят убедительно. Да и результаты сравнительной оценки радиочувствительности клеточных культур различных опухолей с клиническими данными оказываются весьма противоречивыми. Так, клиническая эффективность крупнофракционной лучевой терапии костных метастазов различной природы и

результаты культуральных исследований в тестах SF2 и SF5 оказались практически несопоставимыми (таб.4)

Табл.4. Относительная радиочувствительность костных метастазов после ЛТ: РОД-6,5Гр, СОД-13-26Гр (собств. данные) и усредненная сравнительная радиочувствительность клеточных линий злокачественных новообразований из коллекции National Cancer Institute (NCI-60) (построена на основе данных S. Amundson с соавт*)

Эффективность ЛТ костных мтс		Радиочувствительность клеточных линий			
Тип опухоли	Относительная радиочувствит.#	Тип опухоли	SF2	Тип опухоли	SF5
Меланома	0.82	Р. мол. железы	0,47	Р. толст.кишки	0,12
Р. мол. железы	0.74	Р. легкого	0,54	Р. мол. железы	0,13
Р. простаты	0.72	Р. почки	0,57	Меланома	0,14
Р. легкого	0.6	Р. толст.кишки	0,58	Р. почки	0,17
Р. толст.кишки	0.51	Меланома	0,66	Р. легкого	0,18
Р. почки	0.47	Р. простаты	0,67	Р. простаты	0,21

* Amundson S., et al. Cancer Res. 2008 Jan 15;68(2):415-24.

За 1.0 принята максимальная радиочувствительность костных метастазов ПНЭО

Более 70 лет продолжается изучение гипоксии, как одного из ведущих факторов радиорезистентности. Тем не менее, ни прямое полярографическое измерение уровня pO_2 в тканях, ни молекулярно-генетические ее маркеры (гиперэкспрессия HIF-1 α , остеопонтина), ни определение плотности сосудистого русла и опухолевого кровотока при МР-исследованиях с динамическим контрастным усилением не приобрели клинического значения, как предикторы радиочувствительности/радиорезистентности. Лишь ПЭТ/КТ-исследование с флуоромизонидазолом, представляется, на сегодняшний момент, наиболее перспективным вариантом контроля за pO_2/pCO_2 в клинических условиях, причем именно динамика показателей в процессе лечения, а не базовый уровень накопления радиофармпрепарата имеет наиболее отчетливые предикторские свойства (5).

Не вполне очевидным остается и значение клиничко-динамических параметров, отражающих взаимосвязь ранних и поздних проявлений, как в отношении противоопухолевой эффективности, так и постлучевой токсичности. В частности, вопреки собственным ожиданиям, у больных раком молочной железы старше 65 лет достоверно более позднее, в среднем, появление (18,6 дн. после начала лучевой терапии vs. 15,4 дн. - у 40-50-летних, $p < 0.02$) самой ранней визуальной фиксируемой степени гиперемии кожи (не учитываемой стандартными шкалами постлучевой токсичности) при послеоперационном облучении парастеральной области ассоциировалось с достоверно более высоким риском влажного эпидермита (55,6% vs. 15,0%. у 40-50-летних, $p < 0.02$) и большими средними сроками его репарации (64,0 дн. после начала лучевой терапии vs. 51,8 дн. у 40-50-летних, $p < 0.02$). При раке предстательной железы конечная выраженность и время репарации острых генито-уринарных (GU) повреждений влияли на риск клинически значимых ($Gr \geq 3$) поздних GU-повреждений лишь на уровне тенденции, а наиболее значимым прогностическим фактором оказалась предшествовавшая лучевой терапии трансуретральная резекция простаты (таб.5)

Табл.5. Независимые клинические предикторы поздней GU-токсичности после радикальной протонно-фотонной ЛТ местнораспространенного рака простаты (собств. данные)

Независимые факторы риска GU-повреждений ≥ 3 ст.	Влияние	Уровень значимости (p)
Возраст	Не влияет	0.59
Длительность неоГТ (мес.)	Не влияет	0.24
Предшествовавшая ТУР (да, нет)	Влияет	0.018
Выраженность острых постлучевых GU-поврежд. (степень)	\pm	0.055
Время появления острых GU-повреждений (дни)	Не влияет	0.09
Время появления пика острых GU-повреждений (дни)	Не влияет	0.28
Продолжительность пика острых GU-повреждений (дни)	Не влияет	0.48
Срок репарации острых GU-повреждений (дни)	\pm	0.064

В настоящее время реализуется ряд масштабных многоцентровых проспективных клинических исследований (REQUIRE) в рамках которых для поиска критериев индивидуальной эффективности и токсичности, наряду с традиционными физико-дозиметрическими и клинико-морфологическими факторами прогноза используются и клеточные (RILA) технологии, а так же формируются биобанки данных для параллельных и последующих генетических исследований. Можно надеяться, что именно интеграция полученных данных позволит максимально индивидуализировать программы лучевой терапии, хотя уже сегодня очевидно, что само по себе создание алгоритма учета генетических особенностей, клинических параметров, социальных факторов, наряду с изменениями, наступающими в процессе лечения – задача чрезвычайной сложности.

Список литературы

1. Barnett GC, West CM, Dunning AM, et al. Normal tissue reactions to radiotherapy: towards tailoring treatment dose by genotype. *Nat Rev Cancer* 2009;9:134-42. doi: 10.1038/nrc2587. Epub 2009 Jan 16.
2. Habash M, Bohorquez LC, Kyriakou E, Kron T, Martin OA, Blyth BJ. Clinical and functional assays of radiosensitivity and radiation-induced second cancer. *Cancers (Basel)* 2017;9:147. doi: 10.3390/cancers9110147.
3. Benitez C, Knox S. Harnessing genome-wide association studies to minimize adverse radiation-induced side effects. *Radiation Oncology Journal*. 2020;38(4):226-235. doi.org/103857/roj.2020.00556
4. Rosenstein BS. Radiogenomics: identification of genomic predictors for radiation toxicity. *Semin Radiat Oncol* 2017;27:300-9. doi: 10.1016/j.semradonc.2017.04.005
5. Löck S, Perrin R, Seidlitz A, Bandurska-Luque A, Zschaek S, Zöphel K, et al. Residual tumour hypoxia in head-and-neck cancer patients undergoing primary radiochemotherapy, final results of a prospective trial on repeat FMISOPET imaging. *Radiother Oncol* 2017; 124: 533–40. doi: <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2017.08.010>.

ОПЫТ ОБЩЕЙ И КОСМИЧЕСКОЙ РАДИОБИОЛОГИИ В ОТНОШЕНИИ ОПАСНОСТИ КОСМИЧЕСКИХ ИЗЛУЧЕНИЙ, ОЦЕНКИ РИСКА В ПРОЦЕССЕ МЕЖПЛАНЕТНЫХ ПОЛЕТОВ И УТОЧНЕНИЕ СУММАРНОГО РАДИАЦИОННОГО РИСКА В ТЕЧЕНИЕ ЖИЗНИ КОСМОНАВТОВ

А.В. Шафиркин

Государственный научный центр РФ - Институт медико-биологических проблем РАН,
Москва, Россия

a.v.shafirkin@mail.ru

К началу осуществления полетов в литературе представлены обширные радиобиологические данные об эффектах ионизирующих излучений в экспериментах на Земле, проводимых в 50-60 годы во многих лабораториях мира для обеспечения безопасности населения в связи с ядерной угрозой и массовыми испытаниями ядерного оружия, осуществляемые в различных режимах радиационного воздействия на большом количестве мелких лабораторных животных и крупных млекопитающих. К этому периоду имелся почти 20-летний период исследований по космической радиобиологии воздействия на различные биологические объекты ускоренных протонов, многозарядных ионов в широком диапазоне энергий, а также быстрых нейтронов. В тот же период 50-70 годов проведен большой объем исследований и получены обширные экспериментальные данные по сочетанному действию радиации, а также перегрузок, невесомости, гипоксии, гиподинамии и других физических и бытовых факторов в космических полетах, которые направлены на обоснование коэффициента модификации КМ_Б ближайшего радиационного ответа организма в отношении риска снижения работоспособности и здоровья космонавтов [1- 3].

В докладе рассмотрены близкие в начальном периоде космонавтики подходы по обеспечению радиационной безопасности космических полетов в СССР (России) и США. Оказались близкими и согласованными наиболее опасные к тому периоду источники радиации, критерии радиационной безопасности и предельные нормативные уровни по радиационной безопасности для первых кратковременных и более длительных пилотируемых орбитальных полетов [4].

Проведенный анализ эффектов космических излучений на разных уровнях биологической интеграции в отношении реакции наиболее радиочувствительных тканей, в том числе первичной лучевой реакции (ПЛР) у космонавтов (астронавтов), а также подходов к решению вопросов обеспечения радиационной безопасности показал, что при нормировании в качестве критических рассматривались ближайшие неблагоприятные эффекты, связанные с возможным нарушением работоспособности и жизнеспособности космонавтов в результате стохастического воздействия солнечных космических лучей (СКЛ) во время развития мощных солнечных протонных событий (СПС), с риском развития ПЛР средней степени тяжести, а также выраженных нарушений в обновляющихся радиочувствительных тканях костном мозге, коже, желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), эпителии роговицы [4 - 6].

В докладе представлены также наблюдаемые в дальнейшем различия подходов в СССР и США в определении необходимых дозиметрических функционалов, количественных оценках наблюдаемых эффектов, расчетах радиационного риска и подходах к радиационному нормированию [1, 2, 4, 6].

В ИМБП Минздрава СССР была разработана система государственных стандартов ГОСТ-ов и руководящих документов (РД) по проблеме "Безопасность радиационная экипажа космического аппарата (КА) в космическом полете" (БРЭКАКП), которые были выпущены в период 1983-1991г с описанием моделей источников излучений космического пространства, моделей прохождения излучений

через вещество защиты КА и биологическую ткань с учетом вклада в суммарную дозу вторичных излучений. Были выпущены также ГОСТ-ы, включающие описание моделей ряда биологических эффектов и в том числе ГОСТ 25645. 215-85 БРЭКАКП "Нормы безопасности для полетов до 3-х лет" М.: Госстандарт, 1986.

Для приведения сложного характера облучения в космическом пространстве к условиям стандартного радиационного воздействия на Земле (к эффектам острого равномерного облучения при использовании источников гамма и жесткого рентгеновского излучения с напряжением на трубке 180-250 кВ) был введен новый дозиметрический функционал «Обобщенная доза Н», который составил основу нормативно-технического документа ГОСТ 25645. 201-83. БРЭКАКП Термины и определения. 1984.

В связи с необходимостью в процессе нормирования количественно максимально полно рассчитывать риски ближайших в процессе полетов неблагоприятных эффектов, а также отдаленных неблагоприятных последствий для здоровья космонавтов, окончательное выражение для обобщенных доз для ближайших и отдаленных эффектов H_B и H_O , согласно работам [1, 2, 4, 6], имеет следующий вид:

$$H_B = \left(\sum_{i=1}^n \bar{D}_i \cdot KK_{Bi} \cdot KB_{Bi} \cdot KP_{Bi} \right) KM_B$$

$$H_O = \left(\sum_{i=1}^n \bar{D}_i \cdot KK_{Oi} \cdot KB_{Oi} \cdot KP_{Oi} \right) KM_O,$$

где \bar{D}_i – среднетканевая доза от различных источников радиационной опасности в условиях космического пространства: ГКЛ, СКЛ, протонов радиационных поясов Земли (РПЗ) и потоков вторичных частиц из защиты космических аппаратов, включая нейтроны;

KK_{Bi} — коэффициент качества излучения, определяемый на основе регламентированной его зависимости от линейной передачи энергии (ЛПЭ), согласно Российским и международным нормативным документам.

KB_{Bi} — коэффициент временной неравномерности радиационного воздействия, учитывающий влияние мощности дозы и характера распределения дозы во времени на радиобиологический эффект, приводящий эффекты протяженных и фракционированных воздействий к эффектам при однократном остром облучении в соответствии с данными работ [1, 2, 4, 5];

KP_{Bi} — коэффициент распределения дозы, учитывающий характер распределения дозы по телу и приводящий эффекты неравномерного облучения к условиям равномерного радиационного воздействия. Он определяется в соответствии с моделью равноценной дозы ГОСТ 25645. 219-90 БРЭКАКП М.: Госстандарт, 1991.

KM_B — коэффициент модификации радиационного ответа организма непосредственно в полете за счет дополнительного воздействия нерадиационных стрессовых факторов [1- 3]

$KK_{Oi} \cdot KB_{Oi} \cdot KP_{Oi}$ и KM_O соответствующие коэффициенты для получения значений обобщенной дозы H_O применительно к оценкам риска отдаленных неблагоприятных эффектов в различных системах, а также суммарного радиационного риска в течение жизни космонавтов [1 – 3, 7].

В настоящей работе на строго количественной основе рассмотрены экспериментальные радиобиологические данные и модельные представления по обоснованию значений коэффициентов, входящих в выражения для расчетов обобщенных дозиметрических функционалов. Представлены также расчетные значения радиационного риска для космонавтов в процессе 3-годового полета к Марсу в

период максимума СА за различными толщинами защиты радиационного убежища (РУ) и бытовых отсеков космического корабля, которые сравниваются с демографическим риском смертности для мужчин нашей страны соответствующего возраста [1, 2, 4].

По результатам 16-летнего «Хронического эксперимента» на собаках по их 6-ти летнему облучению в режиме, моделирующем возможные дозовые нагрузки и временной характер облучения при полете к Марсу, анализа результатов острых и протяженных облучений мелких лабораторных животных с различной мощностью дозы, определяющих ускоренное старение и возрастные изменения коэффициентов смертности, рассмотрена модель радиационной скорости смертности млекопитающих. На основе этой модели представлен алгоритм, расчетные значения суммарного радиационного риска (СРР) в течение жизни космонавтов и оценки возможного сокращения средней предстоящей продолжительности жизни (СППЖ) при полете к Марсу, а также в результате общей радиационной нагрузки за их карьеру. Рассмотрены сравнительные данные зависимости от возраста космонавтов СРР и риска канцерогенеза. Показано, что СРР в 3 раза выше, чем риск канцерогенеза для космонавтов в возрасте 25-30 лет и в 9 раз выше для членов экипажей в возрасте 50-55 лет [1, 2, 4].

Расчеты СРР продемонстрировали линейный характер его увеличения с обобщенной дозой H_0 . Его величина составила 13 %; 12,5 % и 11 % на 1 Зв для космонавтов России, астронавтов США и Японии соответственно. Очень важно, что эти величины СРР, полученные на основе радиобиологических экспериментов и модели радиационной скорости смертности млекопитающих, с точностью до 1 - 3 процентов совпали с представленными в литературе оценками СРР на 1 Зв по данным многолетних эпидемиологических наблюдений за здоровьем подвергнутых облучению жителей Хиросимы и Нагасаки, работников п/о «Маяк» ликвидаторов последствий аварии реактора в Чернобыле и др. Результаты этих исследований продемонстрировали, что СРР обусловлен не только дополнительной смертностью от рака, а в большей степени связан с сердечно-сосудистой патологией, недостаточностью мозгового кровообращения, риском инфарктов и инсультов [1, 2, 4]. В результате в новых нормативных документах по радиационной безопасности космических полетов [1, 2, 4, 6]. предел дозы за карьеру космонавтов был снижен в России в 4 раза до 1,0 Зв по сравнению с прежним документом ГОСТ 25645.215-85 (БРЭКАКП) Госстандарт, 1985.

В докладе рассмотрены также экспериментальные данные о новых более высоких максимальных значениях коэффициентов ОБЭМ быстрых нейтронов и ускоренных многозарядных ионов (УМИ) применительно к малым поглощенным дозам, соответствующим существующим в настоящее время предельным нормативным уровням по радиационной безопасности космических полетов, и на этой основе представлена новая зависимость коэффициентов качества (KK_0) космических излучений от линейной передачи энергии (ЛПЭ) [7]. Новая зависимость KK_0 лучше соответствует представленным значениям коэффициентов ОБЭМ и реальной опасности для здоровья человека в отношении развития отдаленных неблагоприятных последствий.

После утверждения этой зависимости в качестве нормативного документа новое среднее значение KK_0 по спектру ЛПЭ для источников космических излучений окажется в отношении ГКЛ почти в 2 раза большим, чем принимаемое в настоящее время расчетное значение на основе 60 Публикации МКРЗ. Это приведет к большим оценкам эквивалентных доз от ГКЛ и величинам СРР.

Впервые проанализированы некоторые новые экспериментальные данные к обоснованию коэффициентов модификации радиационного ответа организма K_{MO} применительно к отдаленным неблагоприятным последствиям за счет дополнительного длительного действия химического загрязнения воздуха в пилотируемом космическом аппарате, а также воздействия невесомости [3]. Продемонстрировано, что значение коэффициента модификации K_{MO} радиационного ответа организма при наличии в воздушной среде ПКА паров ацетона, ацетальдегида и этанола на уровне предельно допустимых концентраций ПДК_{ПКА} может составить значение 1,5. С учетом представленных материалов о синергизме в действии невесомости и тяжелых ядер галактического космического излучения значение коэффициента модификации радиационного ответа организма K_{MO} следует, по крайней мере, принять равным 2,0, что также значительно может увеличить СРР и возможное сокращение СППЖ.

Представленные в докладе материалы демонстрируют относительно малый риск отдаленных последствий (порядка 1 - 1,5 %) от действия СКЛ в условиях мощных СПС при наличии радиационного убежища и бытовых отсеков в марсианском орбитальном комплексе (МОК) и взлетно-посадочном комплексе (ВПК) порядка 15 - 20 г/см² алюминия [5, 8]. Как показали расчеты значения обобщенной дозы от радиационных поясов Земли (РПЗ) при раскрутке в них пилотируемого МОК с помощью жидкостных реактивных двигателей (ЖРД), а также с использованием вместо ядерно-энергетической установки экологически чистых электрических двигателей малой тяги на основе солнечной энергии могут составить 20 сЗв, а СРР - 2,6 % [8]. Возможны также варианты исключения вклада РПЗ в результате сборки МОК на низкой околоземной орбите и быстрого перелета пилотируемого МОК на орбиту около Марса. В результате максимальную и основную опасность, как показано в работах [2 - 5, 7, 8], представляет излучение галактических космических лучей.

Список литературы

1. *Шафиркин А.В., Григорьев Ю.Г.* Межпланетные и орбитальные полеты. Радиационный риск для космонавтов. Радиобиологическое обоснование. М.: Экономика, 2009
2. *Григорьев Ю.Г., Ушаков И.Б., Красавин Е.А. и др.* Космическая радиобиология за 55 лет (К 50-летию ГНЦ РФ-ИМБП РАН). Москва, Экономика, 2013
3. *Шафиркин А.В., Васин А.Л., Татаркин С.В.* К обоснованию коэффициентов модификации K_{MB} и K_{MO} радиационного ответа организма в ближайшем и отдаленном периодах за счет комплексного действия стрессовых факторов при длительных орбитальных и межпланетных полетах //Авиакосмическая и экологическая медицина. 2022. Т.56. № 4. С.5-20
4. *Григорьев Ю.Г., Ушаков И.Б., Шафиркин А.В.* Согласованные подходы и сохраняющиеся различия в вопросах радиационного нормирования в СССР (Россия) и США применительно к длительным пилотируемым космическим полетам. // Гигиена и санитария, 2017. Т.96. №. 9. С. 861-867
5. *Шафиркин А.В.* Изменение парадигмы об опасности космических излучений при осуществлении дальних замагнитосферных полетов к Луне и к Марсу //Авиакосмическая и экологическая медицина. 2020. Т54. № 1. С.5-15.
6. Методические указания МУ 2.6.1.44-03 - 2004 «Ограничение облучения космонавтов при околоземных космических полетах» (ООКОКП-2004). , М.: ФУ «Медбиоэкстрем», 2004.

7. Шафиркин А.В., Григорьев Ю.Г., Ушаков И.Б., Шуршаков В.А. Биологическая эффективность быстрых нейтронов и ускоренных многозарядных ионов для построения новой зависимости коэффициентов качества космических излучений от линейной передачи энергии //Авиакосмическая и экологическая медицина. 2021. Т. 55. № 3. С. 5 - 15

8. Шафиркин А.В., Коломенский А.В., Митрикас В.Г., Петров В.М. Дозовые нагрузки и величины радиационного риска для космонавтов при экспедиции к Марсу на основе реальных конструкторских разработок марсианского корабля. //Авиакосмическая и экологическая медицина. 2010. Т. 44. № 1. С. 5-14

РЕГУЛЯЦИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ЛИПИДАХ ТКАНЕЙ МЛЕКОПИТАЮЩИХ – ОСНОВА ФОРМИРОВАНИЯ ПОСЛЕДСТВИЙ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ

Л.Н. Шишкина, М.В. Козлов

ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия
shishkina@sky.chph.ras.ru

REGULATION OF THE OXIDATIVE PROCESSES IN LIPIDS OF ANIMAL TISSUES AS A BASIS FOR THE FORMATION OF THE IONIZING IRRADIATION CONSEQUENCES

L.N. Shishkina, M.V. Kozlov

Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia,
shishkina@sky.chph.ras.ru

Начало исследования роли процессов окисления липидов в лучевом поражении биологических объектов было положено работами, выполненными в середине прошлого века под руководством профессора Б.Н. Тарусова в МГУ и академика Н.М. Эмануэля в ИХФ АН СССР. Выдвинутая в 1958 г. Н.М. Эмануэлем гипотеза о возможности использования малотоксичных синтетических ингибиторов радикальных процессов – антиоксидантов (АО) в качестве радиозащитных препаратов и для лечения патологических состояний долгое время весьма скептически воспринималась многими биологами и медиками. Безусловно, одним из наиболее значимых открытий того времени явилось выявление экстремальной зависимости радиозащитного эффекта АО от концентрации введенного препарата (рис. 1), которая обуславливала переход от их радиозащитного к радиосенсибилизирующему действию [1, 2]. Затем было установлено, что такая зависимость радиопротекторных свойств от концентрации характерна для любых биологически активных веществ (БАВ).

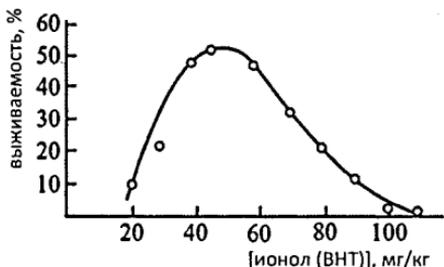


Рис. 1. Зависимость выживаемости мышей линии Balb/c через месяц после рентгеновского облучения в дозе 5,5 Гр от дозы 4-метил-2,6-дигрет.бутилфенола, введенного за 15-30 мин до облучения [1].

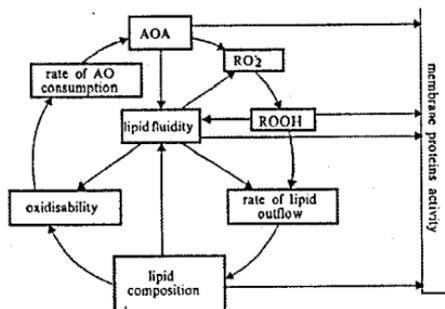


Рис. 2. Физико-химическая система регуляции окислительных процессов в липидах на мембранном уровне [10].

В начале 70-х годов прошлого столетия было показано, что мембрана, наряду с ДНК, также является мишенью действия излучений на биологические объекты [3, 4], а начавшееся одновременно бурное развитие мембранологии позволило обосновать биологическую значимость свободнорадикальных реакций, протекающих во всех компартментах клетки, в регуляции клеточного метаболизма в норме [2, 5, 6]. Однако если в работах школы Н.М. Эмануэля процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) рассматривались как нормальный физиологический процесс [7], понимание этого у зарубежных исследователей появилось лишь к началу XXI века [8]. Обобщением работ 70-х – 80-х годов прошлого века явилось открытие функционирования физико-химической системы регуляции ПОЛ на мембранном уровне (рис. 2) и обоснование роли ее параметров в развитии опухолевого роста и определении защитных свойств АО при лучевом поражении [9–11].

Дальнейшее развитие работ в этом направлении позволило сформулировать ряд обобщений. Было показано экспериментально, что мембранная система регуляции ПОЛ клетки функционирует как единое целое [12]. Более того, физико-химическая система регуляции ПОЛ существует на клеточном и органном уровнях (рис. 3) и функционирует на всех уровнях организации биологических систем (мембранном, клеточном и органном) однотипно [13, 14]. Это, с одной стороны, позволило изучать механизм формирования последствий воздействия ионизирующих излучений на биологические объекты по изменению характера тесно скоординированных в норме показателей системы регуляции ПОЛ, а, с другой стороны, оценить вклад различных параметров системы регуляции ПОЛ в формирование последствий радиационных воздействий в зависимости от тяжести поражения.

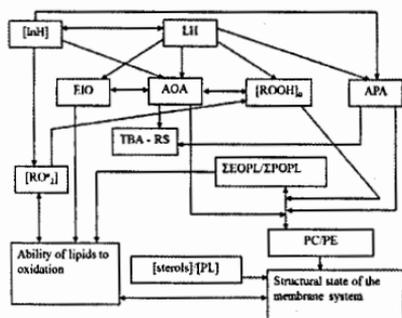


Рис. 3. Схема взаимосвязей между параметрами физико-химической системы регуляции ПОЛ на клеточном и органном уровнях [13].

Было показано, что величина антиокислительной активности (АОА) липидов может быть использована как тест для подбора радиозащитных препаратов и выбора оптимальных условий для их введения [2, 11]. Оказалось, что при остром облучении синтетические АО более эффективны на животных с низким исходным уровнем АОА липидов, при уменьшении дозы облучения и увеличении линейной потери энергии (ЛПЭ) излучения, а радиопротекторная активность природных АО выше на животных с более высоким исходным уровнем АОА липидов и при уменьшении ЛПЭ излучения [11].

Уже в 80-х годах было сформулировано представление о различии ведущих молекулярных механизмов лучевого поражения в разных диапазонах доз [15, 16]. Было показано возрастание роли мембран в формировании последствий воздействия радиации в малых дозах вследствие нелинейной зависимости окислительных процессов в их липидах от дозы облучения и ее мощности [17, 18]. Совокупность экспериментальных данных поставила вопрос о необходимости комплексного подхода к оценке противолучевой эффективности АО и учета временных параметров при их

использовании в качестве радиопротекторов при лучевом поражении разной степени тяжести [19]. Экспериментально показано более существенное влияние исходного состояния процессов ПОЛ в формировании биологических последствий воздействия радиации в малых дозах на организм в лабораторных экспериментах и при изучении состояния процессов ПОЛ в тканях природных популяций грызунов, а также участие параметров системы регуляции ПОЛ в адаптации мышевидных грызунов к длительному обитанию в условиях повышенного радиационного фона [20–22].

Современное состояние исследований регуляции окислительных процессов в липидах, с нашей точки зрения, диктует необходимость более детального изучения механизмы формирования индивидуальной чувствительности в зависимости от тяжести лучевого воздействия и поиска подходов к созданию комплексного теста для оценки минимизации последствий.

Список литературы

1. Бурлакова Е.Б., Гаинцева В.Д., Слепухина Л.В. и др. Связь между радиозащитным и противоопухолевым действием ингибиторов-антиоксидантов // Докл. АН СССР. 1965. Т. 164, № 4, С. 934–936.
2. Бурлакова Е.Б., Алесенко А.В., Молочкина Е.М. и др. Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте. М.: Наука, 1975. 211 с.
3. Alper T. Cell Death and Its Modification: The Roles of Primary Lesions in Membranes and DNA // Biological Aspects of Radiation Qualities. Vienna: IAEA, 1971. P. 171–194.
4. Singh B.B. The Role of Membranes in Radiation Damage // Biomembranes: Architecture, Biogenesis, Bioenergetics and Differentiation. N.-Y.: Acad. Press, 1974. P. 313–318.
5. Владимиров В.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 252 с.
6. Frankel E.M. Lipid oxidation // Prog. Lipids. 1980, V. 19. P. 1–22.
7. Бурлакова Е.Б., Храпова Н.Г. Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты // Успехи химии. 1985. Т. 54. Вып. 9. С. 1540–1558.
8. Hensley K., Robinson K.A., Gabbita B. et al. Reactive Oxygen Species, Cell Signaling and Cell Injury // Free Rad. Biol. & Med. 2000. V. 28. No 10. P. 1456–1462.
9. Аристархова С.А., Архипова Г.В., Бурлакова Е.Б. и др. Регуляторная роль взаимосвязи изменений в концентрации антиоксидантов и составе липидов клеточных мембран // Докл. АН СССР. 1976. Т. 228. № 1. С. 215–218.
10. Burlakova Ye.B., Pal'mina N.P., Mal'tseva Ye.L., A physicochemical system regulating lipid peroxidation in biomembranes during tumor growth // Membrane Lipid Oxidation / Ed/ Vigo Pelfrey. V. III. Boston; CRC Press, 1991. P. 209–237.
11. Шишкина Л.Н., Бурлакова Е.Б. Природные и синтетические антиоксиданты как радиопротекторы // Хим. физика. 1996. Т. 15. № 1. С. 43–53.
12. Шишкина Л.Н., Бурлакова Е.Б. Значение антиоксидантных свойств липидов в лучевом поражении и репарации мембран // Панорама современной химии в России. Химическая и биологическая кинетика. Т. 2. Биологическая кинетика. М.: Химия, 2005, С. 365–395.

13. Шшикина Л.Н., Куинирева Е.В., Смотряева М.А. Новые подходы к оценке биологических последствий воздействия радиации в малых дозах // Радиация биология. Радиоэкология. 2004. Т. 44. № 3. С. 289–295.
14. Shishkina L.N., Klimovich M.A., Kozlov M.V. Functioning similarity of the physicochemical regulatory system of the lipid peroxidation in the membrane and organ levels // *Pharmaceutic and Medical Technology. New Regживых систем spectives/* New York. Nova Science Publishers, 2013/ P. 151–157.
15. Кузин А.М. О различиях ведущих молекулярных механизмов при действии радиации на организм в больших и малых дозах // Изв. АН СССР. Сер. биологическая. 1980. № 6. С. 212–220.
16. Бурлакова Е.Б., Иваненко Г.Ф., Шшикина Л.Н. Вклад антиоксидантов и эндогенных тиолов в обеспечение радиорезистентности организма // Изв. АН СССР. Сер. биологическая. 1985. № 4. С. 588–593.
17. Климович М.А., Сергейчев К.Ф., Карфидов Д.М. и др. Биологическая эффективность рентгеновского излучения в малых дозах переменной мощности // *Технология живых систем*. 2010. Т. 7. № 8. С. 17–28.
18. Климович М.А., Козлов М.В., Шшикина Л.Н. Изменение показателей липидов печени мышей спустя месяц после воздействия на организм низкоинтенсивного рентгеновского излучения в малых дозах переменной мощности // Радиация биология. Радиоэкология. 2012. Т. 52. № 1. С. 58–65.
19. Шшикина Л.Н. Особенности антиоксидантов как радиопротекторов при лучевом поражении разной степени тяжести // Радиация биология. Радиоэкология. 2013. Т. 53. № 5. С. 1–9.
20. Kudyasheva A.G., Shishkina L.N., Shevchenko O.G. et al. Biological Consequences of Increased Radiation Background for *Vicrotus oecomonus* Pall. Populations // *J/ Environ. Radioactivity*. 2007. V. 97. P. 30–41.
21. Shishkina L.N., Kudyasheva A.G., Zagorskaya N.G. et al. Participation of the Lipid Peroxidation Processes in the Mechanism of Wild Rodent Adaptation to Radioactive Contamination of the Chernobyl NPP Zone // *The Lessons of the Chernobyl. 25 Years Later*. New York: Nova Science Publishers, 2012/ P. 187–208/
22. Кудяшева А.Г., Загорская Н.Г., Раскоша О.В., Шшикина Л.Н. Регуляция окислительных процессов в органах мышей при действии химических и физических факторов в малых дозах // *Биофизика*. 2021. Т. 66. № 4. С. 741–749.

ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕЙРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ГИПОГРАВИТАЦИИ И ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

А.С.Штемберг, А.А.Перевезенцев, К.Б.Лебедева-Георгиевская, А.Г.Беляева
ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия,
andrei_shtemberg@mail.ru

RESULTS AND PROSPECTS OF THE STUDY OF THE NEUROBIOLOGICAL EFFECTS OF THE COMBINED ACTION OF HYPOGRAVITY AND IONIZING RADIATION ON EXPERIMENTAL ANIMALS

A.S.Shtemberg, A.A.Perevezentsev, K.B.Lebedeva-Georgievskaya, A.G.Belyaeva
Institute of Biomedical Problems, Moscow, Russia, andrei_shtemberg@mail.ru

В межпланетных миссиях, связанных с выходом корабля за пределы магнитосферы Земли, одним из основных лимитирующих возможность их осуществления факторов становится радиационный, который, в сочетании с другими факторами космического полета (ФКП), может привести к нарушениям функций центральной нервной системы (ЦНС), лежащих в основе операторской деятельности космонавтов. А это, в свою очередь, представляет реальную опасность для выполнения ими полетного задания и самой их жизни. При этом следует подчеркнуть, что, в отличие от отдаленных последствий воздействия радиации (канцерогенез, катарактогенез, цитогенетические нарушения, сокращение продолжительности жизни и др.), эргономический риск, обусловленный возможными нарушениями операторской деятельности космонавтов, связан с угрозой их жизни непосредственно в процессе полета.

Таким образом, первой особенностью межпланетных полетов, отличающей их от орбитальных, является повышенный риск функциональных нарушений в ЦНС, обусловленных воздействием космической радиации. При этом основную опасность представляют галактические космические лучи (ГКЛ) - протоны высоких энергий и тяжелые ионы, обладающие энергиями в широком диапазоне, вплоть до сверхвысоких энергий порядка 10^{20} МэВ. Защититься от таких высокоэнергетических излучений в условиях космического корабля чрезвычайно сложно. Вторая особенность – значительная длительность и автономность полета, вследствие чего в случае возникновения нештатных ситуаций космонавты могут рассчитывать исключительно на свои силы. Это создает высокий уровень психологической напряженности, что, в сочетании с комбинированным воздействием факторов полета (ионизирующие излучения, микрогравитация, измененная среда обитания, вибрация, гипертермия, гипомагнитная среда и др.) определяет чрезвычайно высокий риск астенизации ЦНС, чреватой серьезными нарушениями работоспособности. Важнейшим из нерадиационных ФКП является микрогравитация, которая может действовать односторонне с космической радиацией. Поэтому важно оценить их взаимно модифицирующее действие.

В настоящее время накоплен значительный массив экспериментальных данных о нейробиологических эффектах ТЗЧ [1, 2], однако проблема эффектов комбинированного действия космической радиации и микрогравитации является наименее изученной. Основные работы по этой теме относятся к прошлому веку.

Для адекватного моделирования комбинированного действия радиационного и нерадиационных ФКП в наземных экспериментах необходимо сочетание нескольких подходов:

- моделирование длительного воздействия моделируемой гипогравитации и ионизирующего излучения, которого можно достичь только с помощью источников гамма-излучения;

- моделирование эффектов воздействия тяжелых протонов и тяжелых заряженных частиц (ТЗЧ), которое возможно осуществить с использованием ускорителей заряженных частиц.

В качестве моделей гипогравитации использовали АНОВ для крыс (животное подвешивается за основание хвоста под углом $\approx 30^\circ$ с возможностью передвигаться по клетке с помощью передних лап) и АНОГ для обезьян (животное в специальном костюме фиксируется на наклонном столе под углом $\sim 6^\circ$ с наклоном в сторону головы). В обоих случаях моделируются такие эффекты невесомости как гиподинамия, гипокинезия, снятие нагрузок с задних конечностей, перераспределение жидкостей в организме (прилив к голове).

Исходя из этой концепции, мы использовали следующую методологию экспериментов: длительное синхронное гамма-облучение крыс в состоянии АНОВ в дозах 0,7-3 Гр (стеллаж с вывешенными крысами располагался в облучательской). Далее голову крыс облучали протонами высоких энергий и ионами углерода ^{12}C в аналогичных дозах. Такой подход был использован впервые, поскольку до этого в экспериментах применяли последовательное воздействие облучения и нерадиационных ФКП, в то время как в реальных условиях оно происходит одновременно.

В экспериментах на приматах животных обучали на компьютеризированной установке по методике психологической тестовой системы (ПТС), включающей серию из 18 игровых компьютерных задач возрастающей сложности, моделирующих базовые элементы операторской деятельности и направленных на оценку сенсорно-перцептивных, сенсомоторных и непрерывных перцептивно-моторных и когнитивных ее компонентов. В основе тестов, предлагаемых обезьянам, лежит выработка сложных инструментальных условных рефлексов, связанных с точной координацией движений. В качестве условных раздражителей применяются видео-стимулы различной конфигурации, предъявляемые на экране монитора. В качестве безусловного подкрепления используется стандартная бананово-растительная таблетка.

В типологических характеристиках обезьян учитывались сила, уравновешенность и подвижность нервных процессов, агрессивность, тревожность в различных видах динамической деятельности – в познавательных реакциях на внешние стимулы и в процессе обучения различным когнитивным задачам.

Животных подвергали недельному синхронному воздействию антиортостатической гипокинезии (АНОГ) и гамма-облучению с последующим облучением головы ионами углерода ^{12}C в дозах порядка 1 Гр.

Основные итоги наших многолетних исследований заключаются в следующем.

В экспериментах на крысах было установлено, что комбинированное воздействие исследуемых факторов на интегративном уровне (в поведении животных) в целом приводит к угнетению активных компонентов поведения: двигательной и ориентировочно-исследовательской активности, сдвигу в сторону пассивно-оборонительного поведения и тревожности (рис. 1). При этом наблюдается нелинейная зависимость эффектов от длительности АНОВ. Так, при 30-суточном воздействии зарегистрировано достоверное нарушение долговременной памяти в тесте условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) при комбинированном воздействии.

При сравнении эффектов радиации и АНОВ, как правило, эффекты АНОВ превалировали.

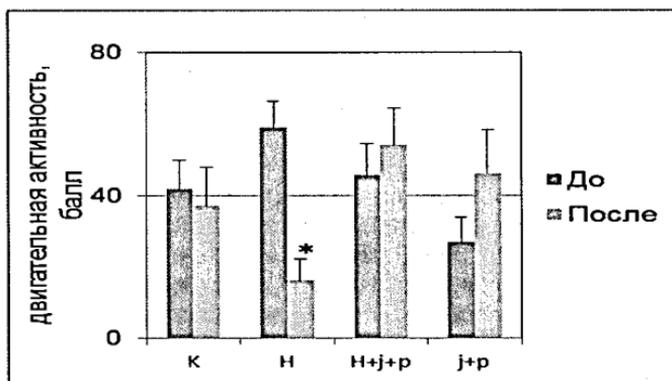


Рис. 1. Двигательная активность крыс после 30-суточного синхронного комбинированного воздействия АНОВ, гамма-облучения и облучения протонами. К – контроль, Н – АНОВ, Н+j+p – комбинированное воздействие, j+p – облучение.

Данные эффекты сопровождались изменениями в балансе метаболизма моноаминов в ключевых структурах мозга, затрагивающих преимущественно дофаминергическую систему.

Интересно отметить, что взаимодействие изучаемых факторов далеко не всегда выражалось в аддитивном или синергическом эффектах, но и в антагонистическом, что наиболее ярко проявилось на молекулярном уровне (рис. 2), что позволило нам выдвинуть гипотезу об интерференционном характере взаимодействия этих факторов.

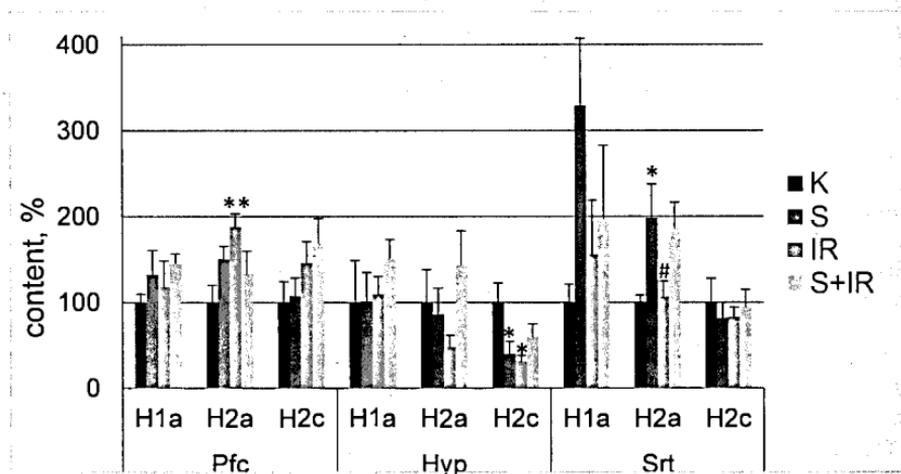


Рис. 2. Серотониновые рецепторы в ключевых структурах мозга при комбинированном действии 30-суточного АНОВ, гамма-излучения и высокоэнергетических протонов.

Основной результат изучения нейробиологических эффектов комбинированного действия гипогравитации и ионизирующих излучений в уникальном эксперименте на

приматах заключался в том, что преобладающую роль в характере этих эффектов играют типологические характеристики животных [3]. Так, обезьяна сильного уравновешенного типа высшей нервной деятельности (ВНД) продолжала успешно решать предлагаемые тесты и осваивать более сложные задачи (рис. 3), в то время как животные с дисбалансом нервных процессов демонстрировали различные нарушения.

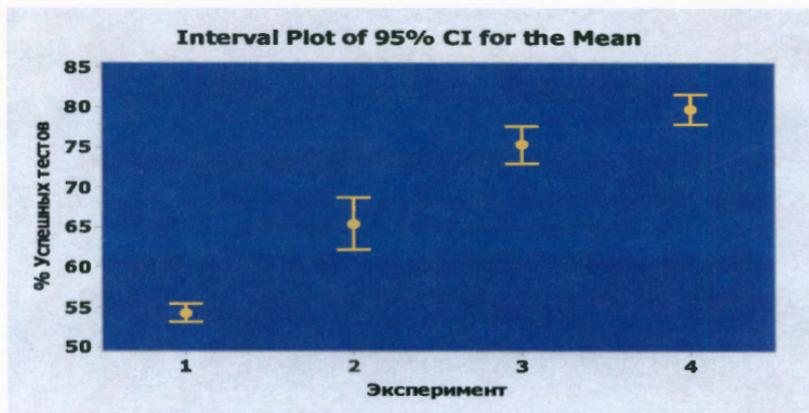


Рис. 3. Результаты однофакторного дисперсионного анализа когнитивных функций обезьяны сильного уравновешенного типа ВНД, подвершейся комплексному воздействию АНОГ+гамма-облучение+облучение ионами углерода+облучение ионами криптона.

Перспективы исследования нейробиологических эффектов комбинированного действия данных факторов заключаются в более адекватном моделировании галактических космических лучей на ускорителях, изучении механизмов выявленных эффектов и взаимной модификации их при их взаимодействии.

Список литературы

1. Rabin, B.M., Carrihill-Knoll, K.L., Shukitt-Hale, B., 2011. Operant responding following exposure to HZE particles and its relationship to particle energy and linear energy transfer. *Advances in Space Research* 48, 370-377.
2. Britten R.A., Davis L.K., Johnson A.M., Keeney S., Siegel A., Sanford L.D., Singletary S.J., Lonart G. Low (20 cGy) Doses of 1 GeV/u ⁵⁶Fe-Particle Radiation Lead to a Persistent Reduction in the Spatial Learning Ability of Rats. // *Radiat. Res.* 2012. V. 177. № 2. P. 146–151.
3. Belyaeva A.G., Kudrin V.S., Koshlan I.V., Koshlan N.A., Isakova M.D., Bogdanova Y.V., Timoshenko G.N., Evgeny A. Krasavin E.A., Blokhina T.M., Yashkina E.I., Osipov A.N., Nosovsky A.M., Perevezentsev A.A., Andrey S. Shtemberg A.S. Effects of Combined Exposure to Modeled Radiation and Gravitation Factors of the Interplanetary Flight: Monkeys' Cognitive Functions and the Content of Monoamines and their Metabolites; Cytogenetic Changes in Peripheral Blood Lymphocytes. // *Life Sciences in Space Research.* 2021. V. 30. P. 45-54.

Научное издание

**АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ
РАДИАЦИОННОЙ БИОЛОГИИ**

Материалы конференции

2022-42

Ответственный за подготовку сборника к печати *И. В. Кошлань*.

Сборник отпечатан методом прямого репродуцирования с оригиналов,
предоставленных оргкомитетом.

Подписано в печать 12.10.2022

Формат 60×90/16. Бумага офсетная. Печать цифровая

Усл. печ. л. 5,75. Уч.-изд. л. 8,47. Тираж 130 экз. Заказ № 60517

Издательский отдел Объединенного института ядерных исследований
141980, г. Дубна, Московская обл., ул. Жолио-Кюри, 6.

E-mail: publish@jinr.ru

www.jinr.ru/publish/