

**На правах рукописи**

**Нагиба Вадим Игоревич**

**ОТДАЛЕННЫЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ДЕЙСТВИЯ БЕТА-  
ИЗЛУЧЕНИЯ ТРИТИЯ НА ГЕНОМ ЧЕЛОВЕКА**

**03.00.01 - радиобиология**

**АВТОРЕФЕРАТ**  
**диссертации на соискание ученой степени**  
**кандидата биологических наук**

**Москва**  
**2009**

**Работа выполнена в радиобиологической лаборатории предприятия  
«Российский Федеральный Ядерный Центр – Всероссийский научно-  
исследовательский институт экспериментальной физики»  
(РФЯЦ-ВНИИЭФ)**

**Научный руководитель:**

кандидат биологических наук  
**Татьяна Ильинична Хаймович**

**Официальные оппоненты:**

доктор биологических наук, профессор  
**Ирина Ивановна Пелевина**  
доктор медицинских наук, профессор  
**Елена Васильевна Домрачева**

**Ведущая организация:**

Российский научный центр радиологии и  
хирургических технологий Федерального  
агентства по высокотехнологичной  
медицинской помощи, г. Санкт-Петербург.

Защита состоится «9» апреля 2009 г в     ч     мин на заседании  
диссертационного совета Д 501.001.65 при Московском государственном  
университете имени М.В. Ломоносова по адресу 119899, г. Москва, ГСП-1,  
Ленинские горы, дом 1, Биологический факультет, аудитория \_\_\_\_\_

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Биологического факультета  
МГУ имени М.В. Ломоносова.

Отзывы просим присылать по адресу: 119991, Москва, Ленинские горы, МГУ,  
Биологический факультет, Веселовой Т.В. Факс: (495) 939-11-15

Автореферат разослан «    » \_\_\_\_\_ 2009 г

**Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор биологических наук**

**Т.В.Веселова**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность исследования.** Тритий является одним из радиобиологически значимых радионуклидов, поступающих в окружающую среду, как из природных, так и техногенных источников. Действие трития и его соединений на организм человека характеризуется рядом особенностей, одной из которых является его способность включаться в состав биологически активных молекул. Тритий способен замещать водород в молекуле ДНК, что может привести к увеличению периода его выведения из организма и, соответственно, к возрастанию риска отдаленных последствий облучения, в том числе, канцерогенного риска. Радиобиологические эффекты действия бета-излучения трития исследованы преимущественно в экспериментах на животных *in vivo* и на клетках человека *in vitro*. Также был выполнен ряд работ по изучению особенностей действия бета-излучения трития на организм человека *in vivo* (Romm, Stephan,1985; Lloyd et.al,1986; Lloyd et.al, 1998; Lucas et.al,1992; Joksic et.al,1998).

В последние десятилетия в связи с развитием ядерной индустрии, интенсификацией работ по созданию термоядерных реакторов и перспективами развития термоядерной энергетики значительно увеличилось содержание трития в окружающей среде. С вводом в строй энергетических термоядерных реакторов, содержание трития на единицу тепловой мощности может в  $10^4$ - $10^5$  раз превысить аналогичный показатель для реакторов деления. Поэтому изучение биологических эффектов действия бета-излучения трития является одной из актуальных задач современной радиобиологии и имеет большое практическое значение для безопасного развития атомной индустрии.

Группа специалистов РФЯЦ-ВНИИЭФ в процессе профессиональной деятельности на протяжении длительного времени подвергалась воздействию бета-излучения трития. Наибольшему радиационному риску были подвержены профессионалы–атомщики, которые начали работать на предприятиях ядерного комплекса в 50-е годы и неоднократно находились в условиях повышенного техногенного радиационного фона в период отсутствия индивидуального дозиметрического контроля. Уникальность этой группы специалистов заключается в том, что все они в течение длительного времени работали с одним видом ионизирующего излучения – бета-излучением трития. Численность этой группы в настоящее время заметно уменьшается, а сведения об индивидуальных дозах радиационного воздействия подчас отсутствуют или не являются достоверными.

В связи с этим представляется чрезвычайно важным изучение состояния генома профессионалов-атомщиков, работавших с тритием, для получения дополнительной информации об особенностях воздействия бета-излучения на

организм человека, а реконструкция поглощенных доз с помощью биологического метода дозиметрии по частоте стабильных хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови позволит объективно оценить неблагоприятные последствия облучения.

### **Цель и задачи исследования**

Целью настоящей работы было изучение отдаленных эффектов действия бета-излучения трития на геном человека.

### **В задачи работы входило:**

1. определить уровень нестабильных хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови профессионалов-атомщиков;
2. определить уровень стабильных хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови профессионалов-атомщиков;
3. провести экспериментальное исследование *in vitro* дозовой зависимости влияния бета-излучения трития на частоту хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови в диапазоне доз от 0 до 1 Гр и построить калибровочные кривые «доза–эффект»;
4. определить значение относительной биологической эффективности (ОБЭ) бета-излучения трития по частоте хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови применительно к конкретным условиям исследования.
5. провести реконструкцию поглощенных доз у профессионалов-атомщиков с помощью биологического метода дозиметрии по частоте стабильных хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови.

**Научная новизна работы.** Впервые проведено цитогенетическое обследование, включающее анализ стабильных и нестабильных хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови, представительной группы специалистов РФЯЦ-ВНИИЭФ, подвергавшихся воздействию бета-излучения трития в процессе профессиональной деятельности.

Впервые для этих специалистов, спустя сорок и более лет с начала работы в условиях радиационно-опасного производства, проведена реконструкция поглощенных доз с помощью биологического метода дозиметрии по частоте стабильных хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови.

При сравнении результатов цитогенетического обследования групп профессионалов - атомщиков, подвергавшихся в процессе профессиональной деятельности воздействию бета-излучения трития и гамма-нейтронному воздействию в сопоставимых дозах, подтверждена более высокая (примерно в 3 раза) биологическая эффективность бета-излучения трития.

**Практическое значение работы.** Показана информативность и значимость анализа

стабильных и нестабильных хромосомных aberrаций для регистрации радиационного поражения при воздействии бета-излучения трития.

Определена целесообразность использования анализа хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови при обследовании профессионалов-атомщиков с целью формирования групп риска отдаленных последствий облучения, в том числе, канцерогенеза.

Полученные в экспериментальном исследовании коэффициенты ОБЭ в совокупности с методами физической и биологической дозиметрии позволяют увеличить надежность и точность определения степени радиационного поражения организма при воздействии бета-излучения трития при нештатных ситуациях и, соответственно, оценить риск отдаленных последствий облучения.

**Положение, выносимое на защиту:** Частота нестабильных хромосомных aberrаций - дицентриков и центрических колец в лимфоцитах периферической крови профессионалов-атомщиков, работавших с тритием и его соединениями и обследованных через 40 и более лет с момента начала работы в условиях радиационно-опасного производства, является объективным показателем радиационного воздействия, а частота стабильных хромосомных aberrаций - транслокаций может применяться для ретроспективной оценки индивидуальных доз

**Апробация работы.** Основные результаты и положения диссертационной работы были доложены и обсуждены на международном семинаре (Саров, 1999); 2-й межотраслевой. научно-технической конференции «Охрана природы и экологическая безопасность на предприятиях Минатома», (Саров, 2002); Sarov Proceed. International Conf. «Genetic Consequences of Emergency Radiation Situations» Moscow, Russia, 2002; I Международная Конференция «Человек и электромагнитные поля», (Саров, 2003); II Международная Конференция «Человек и электромагнитные поля», (Саров 2007).

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа состоит из введения, 4 глав (обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение), выводов и списка литературы. Текст диссертации изложен на 131 машинописных страницах, иллюстрирован 33 таблицами и 35 рисунками. Список литературы включает 170 источников, из них 120 - зарубежных.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### Характеристика обследованной группы

Формирование группы профессионалов-атомщиков для цитогенетического обследования проводили на основании анализа индивидуальных карт

дозиметрического контроля. Основными критериями формирования группы обследования явились вид ионизирующего излучения, действию которого подвергались профессионалы (бета-излучение трития и его соединений), величина суммарной поглощенной дозы, период работы (начало трудовой деятельности во вредных условиях труда в 50 – 60-е годы), а также вид выполняемых работ (профессия).

Контрольная группа была сформирована из сотрудников ВНИИЭФ, которые в течение всей своей профессиональной деятельности не имели контакта с ионизирующим излучением.

В основную группу было включено 79 человек (52 мужчины и 27 женщин), а в контрольную – 49 человек (47 мужчин и 2 женщины), проживающих на момент обследования в городе Сарове. Средний возраст основной группы составил 67 лет, а контрольной - 65 лет.

Большинство обследованных профессионалов-атомщиков начало работу в радиационно-опасных условиях производства в период с 1953 по 1962 годы и продолжали ее в течение 30 – 40 лет, то есть, практически всю свою трудовую жизнь. Средний стаж работы с бета-излучением трития в обследуемой группе составил 31 год, максимальный стаж – 51 год. Количество работающих профессионалов, входящих в основную группу на момент забора крови, составило 29 человек (36 %).

**Оценка дозовых нагрузок** на персонал была проведена расчетными методами по результатам измерений радиационной обстановки в рабочих помещениях на основе математической модели поступления трития в организм человека. Окончательная величина накопленной за период работы дозы состояла из дозы, реконструированной за период отсутствия данных индивидуального дозиметрического контроля, и дозы, полученной по данным индивидуального дозиметрического контроля. Суммарные поглощенные эквивалентные дозы, полученные профессионалами, составили от 0,02 до 0,99 Зв, при этом большинство из них (70 человек) получили дозы менее 0,25 Зв.

**Цитогенетическое обследование** профессионалов-атомщиков, работавших с тритием и его окисью, включало анализ нестабильных хромосомных aberrаций с использованием классического цитогенетического метода и стабильных хромосомных aberrаций с помощью FISH метода.

Анализ нестабильных хромосомных aberrаций проведен у 79 человек, у 20 из них проанализирована частота стабильных хромосомных aberrаций.

**Культивирование лимфоцитов** периферической крови и приготовление хромосомных препаратов проводили стандартным методом (Снигирева, Хаймович, Шевченко. Использование цитогенетических методов для биологической дозиметрии, Методические рекомендации. Саров, РФЯЦ-ВНИИЭФ, 2003, 55 стр.). В состав

культуральной среды входила среда RPMI-1640, которая содержала 15% эмбриональной телячьей сыворотки, 2,5% фитогемагглютинина, 2 мМ глутамина, 10 мМ 5-бромдезоксипуридина в конечной концентрации 3-6 мкг/мл и антибиотики. Инкубацию клеточной культуры проводили при 37<sup>0</sup>С в течение 48 часов.

Препараты метафазных хромосом, предназначенные для анализа нестабильных хромосомных aberrаций, окрашивали, используя технологию «флюоресценция плюс краситель Гимза» (FPG-метод) для определения доли клеток, находящихся на стадии первого митотического деления.

Анализ нестабильных хромосомных aberrаций проводили путем микроскопирования, причем анализировали только метафазы I митоза, имеющие в сумме 46 центромер. Учитывали все типы хромосомных aberrаций.

Анализ стабильных хромосомных aberrаций (транслокаций) проводили с помощью метода окрашивания, основанного на молекулярной гибридизации ДНК-зонда с ДНК метафазных хромосом, фиксированных на предметном стекле, с последующим использованием флюоресцентной микроскопии для детекции результатов гибридизации (FISH метод). Для анализа транслокаций использовали коммерческие наборы фирмы MetaSystems GmbH, которые включают ДНК-зонды, специфичные к 1, 4 и 12 хромосомам человека. Для описания транслокаций использовали следующую классификацию: конфигурацию, при которой в клетке имелись две двуцветных хромосомы, взаимно обменявшиеся своими частями, расценивали как «полную» транслокацию ( $t_c$ ). Если в клетке была только одна двуцветная хромосома, то транслокацию считали «неполной» ( $t_i$ ).

Для пересчета частоты обменных aberrаций с участием окрашенных хромосом на геномную частоту этих событий использовали следующую формулу (Lucas et al, 1989).

$$F_G = F_P / 2,05 * f (1 - f_P),$$

где  $F_G$  - частота транслокаций, рассчитанная на весь геном;

$F_P$  - частота обнаруженных транслокаций в части генома;

$f_P$  - доля генома, которую составляют «окрашенные» хромосомы.

#### **Схема проведения радиобиологического эксперимента.**

Для исследования дозовой зависимости частоты хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови человека при действии бета-излучения оксида трития (НТО) был проведен эксперимент по облучению проб крови в диапазоне доз от 0,05 до 1 Гр при двух режимах.

В первом случае (вариант А) мощность дозы при облучении проб крови была разной и составляла от 0,0025 до 0,0625 Гр/час, при этом время облучения оставалось постоянным - 24 часа. Во втором случае (вариант В) облучение в разных дозах

проводили с одинаковой мощностью дозы, равной 0,0313 Гр/час, а время облучения различалось. В таблицах 1 и 2 представлены режимы облучения при двух вариантах.

Таблица 1. Режим облучения проб крови бета-излучением НТО с изменяющейся мощностью дозы и постоянным временем облучения (режим А).

№ п/п	Доза, Гр	Мощность дозы, Гр/час	Объемная активность, Бк/мл
1	0,06	0,0025	$4,59 \cdot 10^6$
2	0,15	0,0063	$13,80 \cdot 10^6$
3	0,26	0,018	$22,75 \cdot 10^6$
4	0,50	0,021	$45,90 \cdot 10^6$
5	0,75	0,031	$67,80 \cdot 10^6$
6	1,00	0,042	$91,90 \cdot 10^6$

Таблица 2. Режим облучения проб крови бета-излучением НТО с постоянной мощностью дозы и с разным временем облучения (режим В).

№ п/п	Доза, Гр	Время облучения, час
1	0,05	1,6
2	0,15	4,8
3	0,25	8,0
4	0,50	16,0
5	0,75	24,0
6	1,00	32,0

Всего было проведено 6 серий облучений проб крови, полученных от 5 доноров. Каждую серию облучений проводили при двух режимах: А и В.

Пробы крови облучали в стерильных условиях при комнатной температуре. В каждую пробирку помещали по 5мл цельной крови, 1мл среды RPMI-1640 с антибиотиками и 1мл раствора НТО соответствующей активности. Стерилизацию растворов НТО проводили, пропуская их через фильтрующие насадки Millipore. Процедуру отмывки надосадочной жидкости повторяли 4 раза, центрифугируя пробы крови в течение 15 минут при 1000 об/мин. Бета-активность удаляемой надосадочной жидкости после четвертой отмывки определяли на жидкостном сцинтилляционном счетчике РЖС-05 с использованием сцинтилляционного раствора Ultima Gold. Погрешность измерений составила  $\pm 10\%$ .



Статистическую обработку результатов проводили общепринятыми методами (Гланц, 1999, Лапач и др., 2000). Достоверность различий между группами оценивали с помощью точного критерия Фишера.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Анализ нестабильных хромосомных aberrаций в группе профессионалов-атомщиков

В таблице 3 представлены результаты анализа нестабильных хромосомных aberrаций в группе профессионалов-атомщиков. Здесь же приведены результаты обследования контрольной группы.

Таблица 3. Результаты цитогенетического обследования группы профессионалов-атомщиков (анализ нестабильных хромосомных aberrаций)

Группа	Кол-во человек	Кол-во клеток	Частота хромосомных aberrаций, на 100 клеток, M ± m			
			ab	dic + rc	ace	chr
Контроль	49	51893	0,92 ± 0,04	0,08 ± 0,01	0,32 ± 0,02	0,51 ± 0,03
Профессионалы	79	65557	1,82 ± 0,05*	0,18 ± 0,02*	0,64 ± 0,03*	0,95 ± 0,04*

\* - разница с контрольными значениями достоверна,  $p < 0,05$ , точный критерий Фишера

ab - общее число aberrаций;

dic + rc – дицентрики и центрические кольца ;

ace –acentрические фрагменты; chr --хроматидные aberrации.

Статистический анализ полученных данных позволил выявить достоверные различия по всем цитогенетическим показателям – общая частота хромосомных aberrаций, частота дицентриков и центрических колец, частота ацентрических фрагментов, а также aberrаций хроматидного типа в группе профессионалов-атомщиков достоверно превышала соответствующие контрольные значения. Что касается маркеров радиационного воздействия – дицентриков и центрических колец, то их частота в группе профессионалов-атомщиков была в 2,25 раз выше, чем в контрольной группе. Таким образом, проведенный цитогенетический анализ позволил выявить среди циркулирующих лимфоцитов периферической крови клетки с хромосомными aberrациями – дицентриками и центрическими кольцами, индуцированные бета-излучением трития.

Была проанализирована зависимость индивидуальной частоты хромосомных aberrаций от накопленной за весь период работы поглощенной дозы. В целом наблюдается слабая, но значимая корреляция индивидуальных частот обменных aberrаций и значений поглощенных доз (коэффициент корреляции составил 0,23;  $p \leq 0,05$ ).

Для более детального анализа дозовой зависимости частоты хромосомных aberrаций обследованная группа профессионалов-атомщиков была разделена на 3 равные по числу людей подгруппы согласно значениям накопленных поглощенных доз. В таблице 4 представлены результаты проведенного анализа.

Подгруппы с наименьшими и с наибольшими значениями накопленных доз достоверно отличаются по частоте дицентриков и центрических колец. Частота обменных aberrаций составила  $0,14 \pm 0,02$  в первой подгруппе и  $0,24 \pm 0,04$  на 100 клеток во второй. Следует отметить, что все подгруппы, включая также и подгруппу с накопленными значениями доз менее 3,6 сЗв, по всем цитогенетическим показателям достоверно отличаются от контрольных значений.

Таблица 4. Результаты цитогенетического анализа в группах профессионалов-атомщиков с разными значениями суммарных поглощенных доз.

Доза, сЗв	Кол-во человек	Кол-во клеток	Частота хромосомных aberrаций, на 100 клеток, M ± m			
			ab	dic+rc	ace	chr
Контроль	49	51893	$0,92 \pm 0,04$	$0,08 \pm 0,01$	$0,32 \pm 0,02$	$0,51 \pm 0,03$
D < 3,6	27	24481	$1,69 \pm 0,08^a$	<b><math>0,14 \pm 0,02^{*a}</math></b>	$0,59 \pm 0,05^a$	$0,92 \pm 0,06^a$
$3,6 \leq D \leq 10,3$	26	21411	$1,79 \pm 0,09^a$	$0,16 \pm 0,03^a$	$0,64 \pm 0,05^a$	$0,95 \pm 0,07^a$
D > 10,3	26	21283	$2,00 \pm 0,10^a$	<b><math>0,24 \pm 0,04^{*a}</math></b>	$0,68 \pm 0,06^a$	$0,98 \pm 0,07^a$

<sup>a</sup> - различия с контрольной группой достоверны

\* - различия между подгруппой с накопленной дозой меньше 3,6 сЗв и подгруппой с дозой больше 10,3 сЗв достоверны,  $p \leq 0,05$ , точный критерий Фишера.

Поскольку клетки с нестабильными хромосомными aberrациями (дицентриками и центрическими кольцами), постепенно элиминируют из периферической крови, по остаточной частоте дицентриков и центрических колец спустя годы после радиационного воздействия можно только судить о возможном факте облучения без оценки дозы. Однако результаты проведенного анализа, несомненно, важны, особенно при осуществлении цитогенетического мониторинга в группах людей, подвергшихся облучению в процессе профессиональной

деятельности. Полученные результаты позволяют оценить степень повреждения генома и могут быть объективным критерием при формировании групп риска развития отдаленных последствий облучения, в том числе канцерогенеза.

#### **Анализ стабильных хромосомных aberrаций в группе профессионалов-атомщиков.**

В таблице 5 приведены объединенные данные для обследованной группы профессионалов-атомщиков.

Учитывая имеющиеся в литературе сведения об увеличении частоты транслокаций с возрастом, полученные результаты сравнивали не только с контрольными значениями, полученными при обследовании контрольной группы (Snigiryova et al, 1997), но и с литературными данными (Whitehouse, et al., 2005).

Средняя частота транслокаций для всей обследованной группы составила  $21,8 \pm 3,1$  на 1000 клеток. Эта величина примерно в 2 раза превышала контрольный уровень по данным литературы (как для возраста 60–69 лет, так и для возраста 70–79 лет) и в 4 раза - уровень транслокаций собственной контрольной группы. Только для двух обследованных профессионалов были получены высокие значения частоты транслокаций –  $87,9 \pm 14,5$  и  $57,5 \pm 15,6$  на 1000 клеток. Исключение этих людей из расчета лишь незначительно снижало значение средней частоты транслокаций ( $19,0 \pm 1,7$  на 1000 клеток).

Принимая во внимание, что частота транслокаций в лимфоцитах периферической крови используется для ретроспективной дозиметрии, была проанализирована зависимость этого показателя от величины накопленной за период профессиональной деятельности дозы. В обследованной группе профессионалов выявлена положительная корреляция между индивидуальной частотой транслокаций в лимфоцитах крови и поглощенной дозой, полученной с помощью расчетных методов дозиметрии ( $r=0,75$ ;  $p \leq 0,001$ ).

Таблица 5 - Результаты цитогенетического анализа в группе профессионалов-атомщиков (FISH метод)

Группа	Число обследованных	Эквивалентная доза, сЗв, М±m	Возрастной диапазон	Число клеток –эquiv. (N <sub>эquiv</sub> )	Число транслокаций (t <sub>c</sub> +t <sub>i</sub> )	Геномная частота транслокаций на 1000 клеток (F <sub>G</sub> ) М ± m
Профессионалы - атомщики	20	20,4 ± 5,9	63-76	14342	314	21,9 ± 3,1*
	2	82,0 ± 17,5	67-68	618	48	77,7 ± 14,1*
	18	13.6 ± 3,6	63-76	13724	266	19,4 ± 1,7*
Контроль (Whitehouse et al, 2005)	67	-	60-69	32547	328	10,1 ± 0,8
	41	-	70-79	17227	231	13,4 ± 1,2
Контроль(Snigiryova et.al, 1997)	16	-	35-61	9061	49	5.4 ± 1,1

\* - различия с контрольными значениями достоверны,  $p \leq 0,05$

N<sub>эquiv</sub>- клеточный эквивалент;

$N_{эquiv} = 2,05 \times f_p \times (1-f_p) \times N$ ; где  $f_p$  – доля генома, которую составляют «окрашенные» хромосомы (0,187);

N – число проанализированных метафаз.

## Исследование дозовой зависимости для частоты хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови человека при действии бета-излучения оксида трития (НТО).

В эксперименте *in vitro* было проведено исследование влияния дозы бета-излучения трития на частоту хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови. Были проанализированы дозовые зависимости для частоты дицентриков и центрических колец, полученные после облучения проб крови бета-излучением НТО при разных режимах радиационного воздействия, и построены кривые «доза-эффект» (рис. 1). Статистический анализ данных показал, что дозовые зависимости, полученные при разных режимах облучения, не имели достоверных различий. Поэтому данные двух экспериментов были объединены и проанализированы. Для построения регрессии использовался метод наименьших квадратов с весами, величины которых пропорциональны дисперсиям частот хромосомных aberrаций. Полученная зависимость «доза-эффект» для дицентриков и центрических колец лучше всего описывается линейно-квадратичной моделью  $Y = (0,05 \pm 0,02) \times 10^{-2} + (3,87 \pm 0,12) \times 10^{-2} \times D + (7,28 \pm 0,14) \times 10^{-2} \times D^2$  где Y – частота дицентриков и центрических колец на 100 клеток; D – доза, Гр.

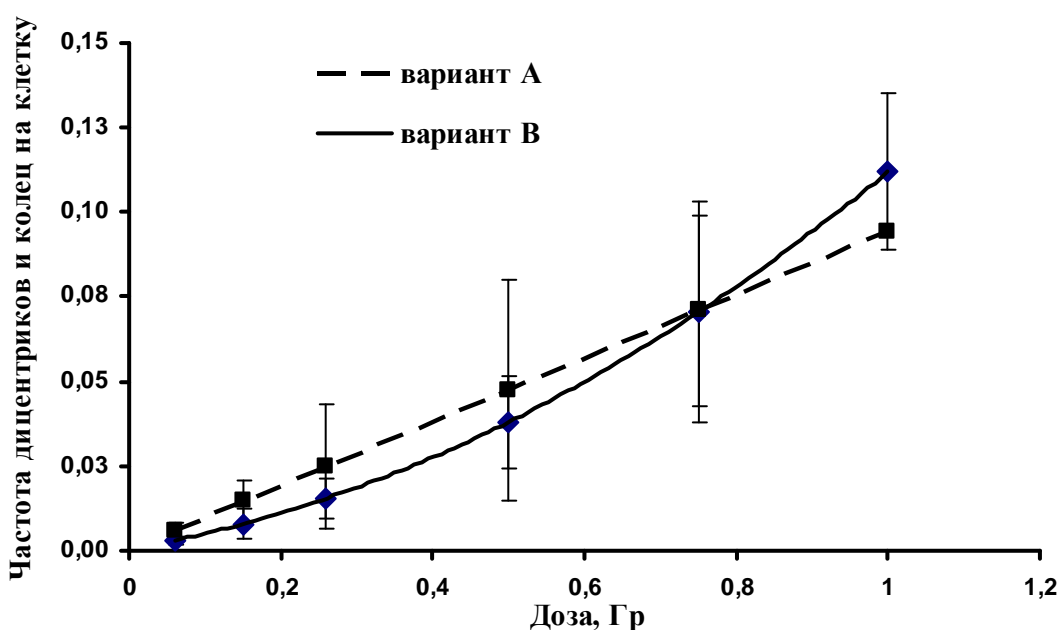


Рисунок 1 - Зависимости частоты дицентриков и центрических колец от дозы бета-излучения трития *in vitro* при разных режимах облучения.

График регрессии для частоты дицентриков и центрических колец представлен на рисунке 2.

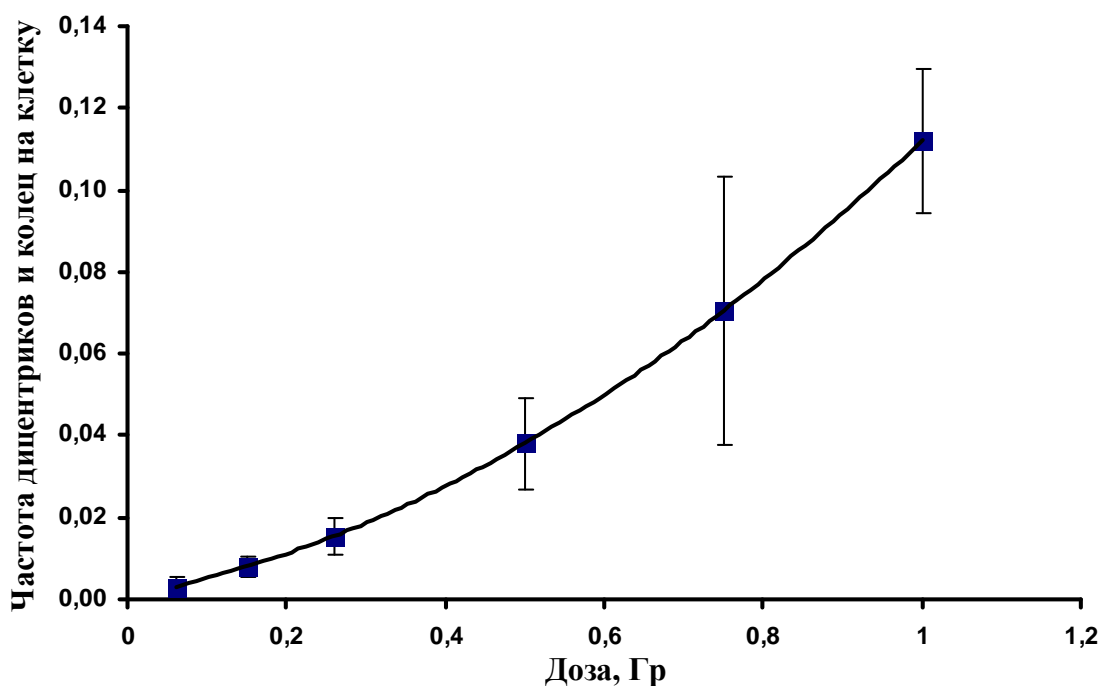


Рисунок 2 – Объединенная кривая «доза-эффект» для частоты дицентриков и центрических колец

Также были проанализированы зависимости «доза-эффект» для aberrаций хромосомного и хроматидного типов. Коэффициенты регрессионных зависимостей вида  $y=c + aD+bD^2$  представлены в таблице 6.

Таблица 6. Коэффициенты регрессионных зависимостей вида  $y=c + aD+bD^2$

Цитогенетический показатель	$a \times 10^{-2}$	$b \times 10^{-2}$	$c \times 10^{-2}$	r	p
Дицентрики и центрические кольца	$3,87 \pm 0,12$	$7,28 \pm 0,14$	$0,05 \pm 0,02$	0,891	$\leq 0,01$
Аберрации хромосомного типа	$7,29 \pm 0,35$	$16,49 \pm 0,44$	$0,92 \pm 0,25$	0,912	$\leq 0,01$
Хроматидные aberrации	$0,92 \pm 0,02$	-	$0,87 \pm 0,14$	0,319	$\leq 0,01$

r – коэффициент корреляции;

p – уровень значимости

В диапазоне доз от 0,05 до 1,0 Гр зависимости доза-эффект для дицентриков и центрических колец и для всех aberrаций хромосомного типа описываются линейно-квадратичным уравнением, а для aberrаций хроматидного типа – линейным уравнением.

**Оценка относительной биологической эффективности бета-излучения НТО.** Полученные в радиобиологическом эксперименте результаты позволили провести оценку

относительной биологической эффективности бета-излучения трития при данных, конкретных условий облучения. ОБЭ бета-излучения трития определяли, сравнивая полученные в эксперименте с НТО данные с результатами эксперимента по облучению проб крови гамма-излучением  $^{60}\text{Co}$  с мощностью дозы 0,103Гр/мин. (ур. регрессии-  $Y = (0,0008 \pm 0,0006) + (0,0080 \pm 0,0017) \times D + (0,0771 \pm 0,0017) \times D^2$ ). Сравнивали дозы излучения, которые индуцируют одинаковую частоту хромосомных aberrаций, а именно частоту дицентриков и центрических колец. Величину относительной биологической эффективности бета-излучения трития определяли, используя следующее уравнение:

$$\text{ОБЭ} = D_\gamma / D_\beta = [(0,0027 + 0,5019 \times D_\beta + 0,9442 \times D_\beta^2)^{1/2} - 0,0519] / D_\beta. \quad (1)$$

где: ОБЭ – относительная биологическая эффективность

$D_\gamma$  – доза гамма-излучения, Гр

$D_\beta$  – доза бета-излучения, Гр

График зависимости ОБЭ трития от дозы бета-излучения НТО приведен на рисунке 3.

В исследованном диапазоне доз ОБЭ трития выше эффективности гамма-излучения, особенно ярко это проявляется в области малых доз. Так, при минимальной дозе 0,05 Гр наблюдается максимальная ОБЭ трития, равная примерно 2,6. При дозе 1,0 Гр ОБЭ НТО составляет 1,15.

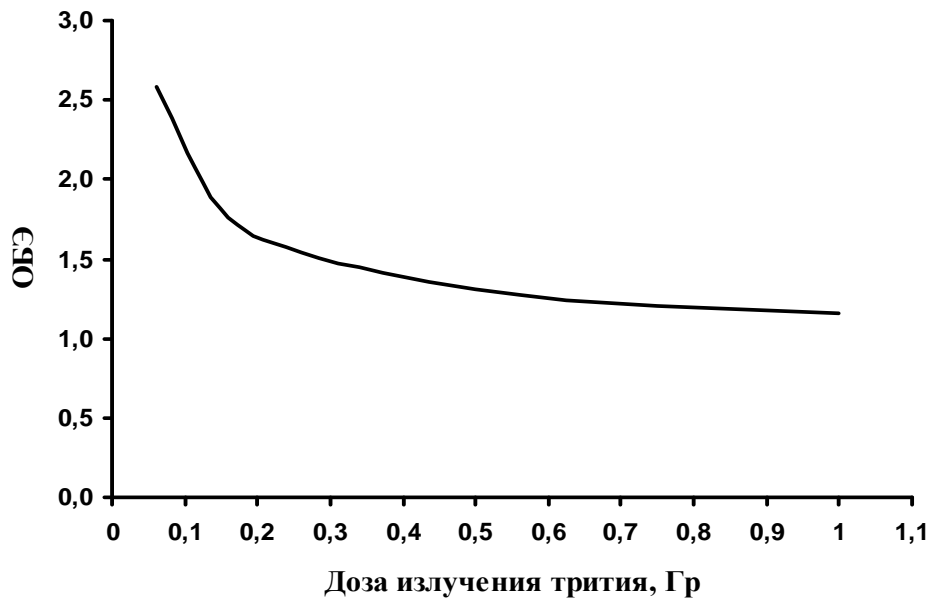
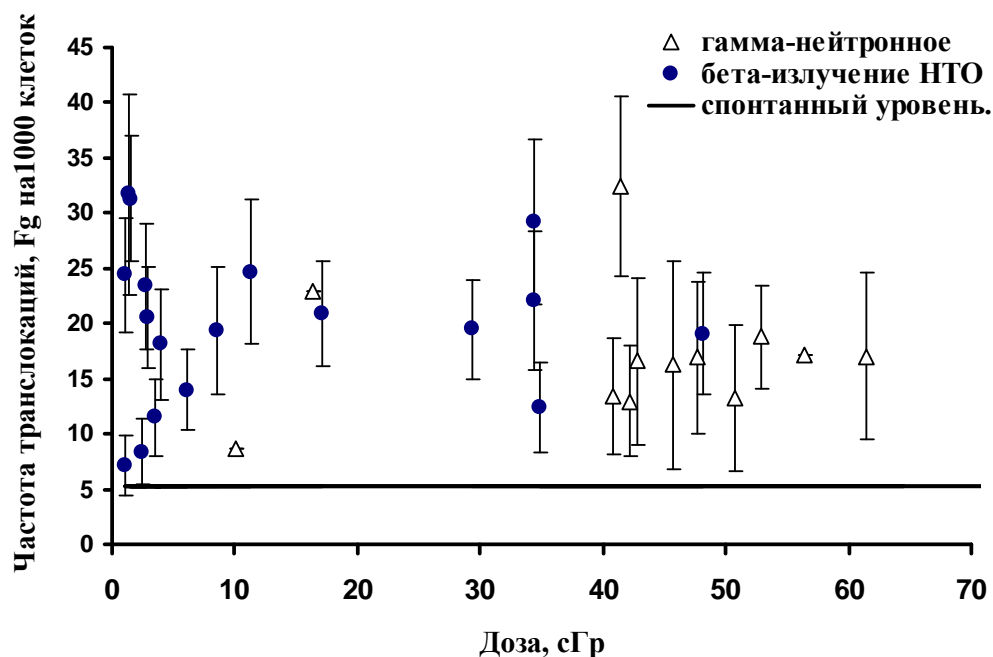


Рисунок 3 – Значения ОБЭ бета-излучения трития в исследуемом диапазоне доз.



**Рисунок 4.** Частоты транслокаций у профессионалов-атомщиков, подвергавшихся действию бета- и гамма-нейтронного излучений, сформированных по величине эффекта (индивидуальные данные).

Данные по частоте транслокаций в группе профессионалов-атомщиков, подвергавшихся действию бета- излучения трития, а также аналогичные данные, полученные ранее (Proceedings of IV ISTC scientific advisory committee seminar, Novosibirsk, 2001) при обследовании профессионалов-атомщиков, подвергавшихся действию внешнего гамма-нейтронного излучения, позволили проверить полученные в эксперименте значения биологической эффективности трития. С этой целью был проведен сравнительный анализ результатов цитогенетического обследования профессионалов-атомщиков, имевших близкие значения частот транслокаций. На рисунке 4 представлены индивидуальные значения частот транслокаций в группах профессионалов-атомщиков, подвергавшихся действию бета- и гамма-нейтронного излучений.

Средние значения частот транслокаций и поглощенных доз в группах профессионалов-атомщиков, подвергавшихся действию бета- и гамма-нейтронного излучений, представлены в таблице 7.



**Таблица 7** – Результаты сравнительного анализа данных цитогенетического обследования групп профессионалов-атомщиков, подвергавшихся действию бета- и гамма-нейтронного излучений

Вид воздействия	Количество человек	Частота транслокаций $F_G$ на 1000 кл. $M \pm m$	Средняя доза, сЗв * $M \pm m$	$D_\gamma - n/D_\beta$
Бета-излучение трития	18	$19,4 \pm 1,7$	$13,6 \pm 3,5$	3,3
Гамма-нейтронное излучение	13	$19,8 \pm 2,7$	$44,4 \pm 4,9$	

\*- доза реконструирована по данным физической дозиметрии

Как следует из таблицы 7, в группе профессионалов, подвергавшихся действию гамма-нейтронного излучения, дозы, вызывающие эффект, близкий к наблюдаемому в группе профессионалов, подвергавшихся воздействию бета-излучения трития, были выше в 3,3 раза. Эти данные являются косвенным подтверждением более высокой биологической эффективности бета-излучения трития и позволяют сделать вывод о хорошем соответствии со значениями ОБЭ бета-излучения трития, полученными при проведении радиобиологического эксперимента.

Таблица 8 - Биологическая оценка индивидуальных доз в группе профессионалов-атомщиков.

Код	Доза, полученная с помощью расчетных методов дозиметрии, сЗв	Частота транслокаций, F <sub>G</sub> , на 100 кл.	Биологическая оценка дозы, сЗв	
			Вариант 1 (по калибровочной кривой для бета-излучения, Deng 1998)	Вариант 2 (по калибровочной кривой для гамма-излучения с учетом ОБЭ трития)
S204	8,5 ± 1,2	1,9 ± 0,6	24	14
S208	99,4 ± 22	5,7 ± 1,6	85	72
S211	2,8 ± 0,8	2,3 ± 0,6	30	16
S212	1,05 ± 0,5	2,4 ± 0,5	26	16
S213	11,3 ± 1,0	2,5 ± 0,7	26	20
S216	17,1 ± 2,4	2,1 ± 0,5	26	21
S219	6,1 ± 1,5	1,4 ± 0,4	15	8
S220	1,6 ± 0,5	3,1 ± 0,6	43	20
S221	2,9 ± 0,6	2,0 ± 0,5	25	13
S223	3,9 ± 0,9	1,8 ± 0,5	21	12
S226	1,4 ± 0,4	3,2 ± 0,9	44	23
S242	34,4 ± 10,5	2,21 ± 0,6	28	27
S244	48,1 ± 5,0	1,9 ± 0,6	23	25
S268	64,5 ± 5,0	8,7 ± 1,4	135	92
S271	34,4 ± 3,2	2,9 ± 0,7	40	35
S275	29,4 ± 1,5	2,0 ± 0,4	24	24

**Реконструкция поглощенных доз в группе профессионалов-атомщиков по частоте стабильных хромосомных aberrаций (транслокаций) в лимфоцитах периферической крови.**

Для восстановления полученных доз радиационного воздействия по частоте хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови используют калибровочную кривую «доза-эффект», полученную, как правило, при проведении радиобиологического

эксперимента. В настоящей работе реконструкцию поглощенных доз проводили следующими способами:

- с использованием калибровочной кривой, полученной для частоты транслокаций при облучении проб крови бета-излучением трития (литературные данные, Deng et.al., 1998);

- с использованием калибровочной кривой для частоты транслокаций, полученной при облучении проб крови гамма-излучением  $^{60}\text{Co}$  (собственные данные, Novosibirsk, 2001) с учетом значений ОБЭ, полученных в данной работе.

Дозы были определены только для тех профессионалов, у которых частота транслокаций в лимфоцитах периферической крови достоверно превышала контрольные значения.

Результаты реконструкции доз по частоте транслокаций приведены в таблице 8. Значения доз, которые были оценены по частоте транслокаций по калибровочной кривой для бета-излучения, составили от 15 до 135 сЗв, а по калибровочной кривой для гамма-излучения с учетом ОБЭ трития – от 8 до 92 сЗв. Интересно отметить наличие достоверной корреляции между поглощенными дозами, полученными расчетными методами дозиметрии и дозами, реконструированными по частоте транслокаций. Коэффициенты корреляции составили 0,68 ( $p \leq 0,001$ ) и 0,85 ( $p \leq 0,001$ ) для первого и второго вариантов биологической реконструкции доз соответственно. При этом максимальная корреляция наблюдалась между значениями биологических доз, реконструированных двумя способами: коэффициент корреляции равен 0,95,  $p \leq 0,001$ . На рисунке 5 приведены соотношения реконструированных биологических доз от величин доз, полученных физическими методами.

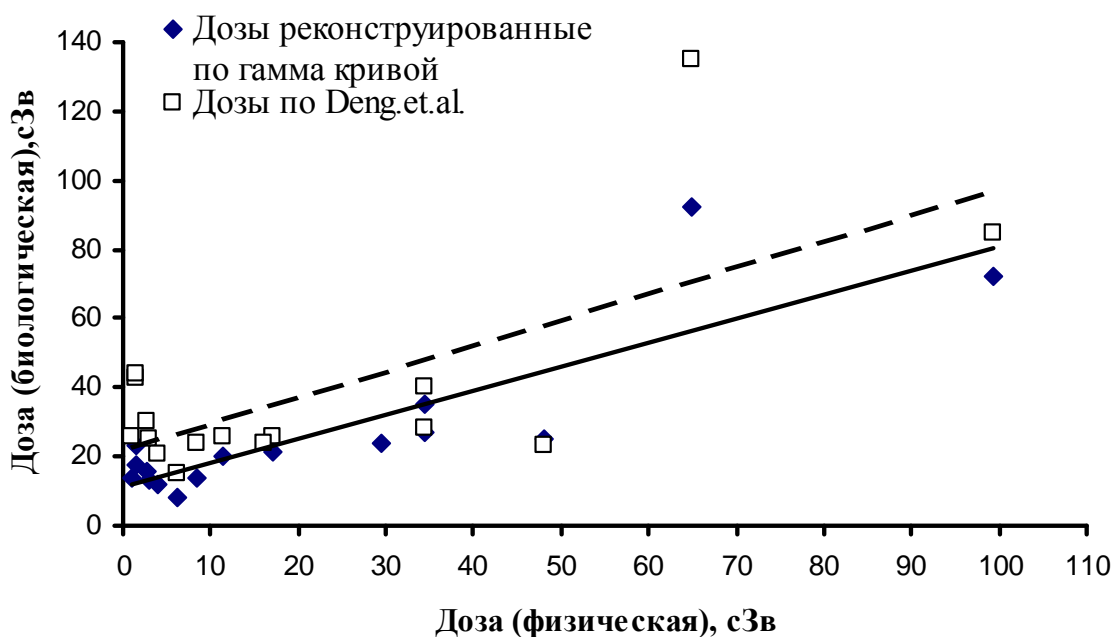


Рисунок 5 Соотношения реконструированных биологических доз и доз, полученных физическими методами

При оценке биологической дозы по калибровочной кривой, полученной для бета-излучения, хорошее совпадение с расчетными дозами было для четверых обследованных профессионалов. Для одного человека (S244) «биологическая» доза была ниже расчетной, а для всех остальных - значительно выше расчетных значений. Можно предположить, что одной из причин наблюдаемых различий между расчетными и «биологическими» дозами является индивидуальная чувствительность организма к действию радиации, включая и индивидуальные особенности процессов репарации. Также нельзя исключить и возможные ошибки при восстановлении доз с помощью расчетных методов дозиметрии на основе результатов измерений радиационной обстановки в рабочих помещениях и построении математической модели поступления трития в организм человека.

При этом следует помнить, что применяемые для биологической дозиметрии калибровочные кривые построены в условиях острого однократного облучения, а восстановление доз проводится для профессионалов, подвергавшихся хроническому или пролонгированному облучению в течение длительного времени. Условия и характер радиационного воздействия могут быть очень индивидуальны и, к сожалению, учесть эти важные моменты не представляется возможным.

### **Выводы**

1. Средняя частота нестабильных хромосомных aberrаций в группе профессионалов-атомщиков, обследованных через 40 и более лет с момента начала работы в условиях радиационно-опасного производства, достоверно превышает контрольный уровень. При этом частота маркеров радиационного воздействия – дицентриков и центральных колец в 2,25 раза выше аналогичного показателя в контрольной группе и коррелирует с величиной поглощенной дозы (коэффициент корреляции равен 0,23;  $p \leq 0,05$ ).

3. Средняя частота стабильных хромосомных aberrаций - транслокаций в обследованной группе профессионалов-атомщиков составила  $21,9 \pm 3,1$  на 1000 клеток. Эта величина в 4 раза превышает контрольный уровень. Выявлена положительная корреляция между индивидуальными значениями транслокаций и поглощенной дозой ( $r = 0,65$ ;  $p \leq 0,01$ ).

4. Проведено исследование *in vitro* влияния бета-излучения трития в диапазоне доз от 0 до 1 Гр на частоту нестабильных хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови и построены кривые зависимости «доза–эффект». В исследованном диапазоне доз зависимости «доза–эффект» для дицентриков и центральных колец, а также для всех aberrаций хромосомного типа описываются линейно-квадратичным уравнением, для aberrаций хроматидного типа – линейным уравнением.

5. По частоте хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови определены значения ОБЭ бета-излучения трития в диапазоне доз от 0,05 до 1 Гр. Максимальное значение ОБЭ – около 2,6 получено в области малых доз (0,05 Гр). При

увеличении дозы радиационного воздействия значение ОБЭ снижается, составляя около 1 при дозе 1 Гр.

6. Показано, что радиационное поражение генома клеток крови профессионалов-атомщиков, работавших с тритием, более чем в 3 раза превышает поражение генома после действия внешнего гамма-нейтронного излучения в отдаленные сроки после хронического воздействия. Эти данные являются косвенным подтверждением более высокой биологической эффективности бета-излучения трития и свидетельствуют о хорошем соответствии с экспериментально полученными значениями ОБЭ.

7. Реконструкция поглощенных доз с помощью биологического метода дозиметрии по частоте транслокаций в группе профессионалов-атомщиков проведена двумя способами: с использованием калибровочной кривой «доза-эффект» для бета-излучения трития (литературные данные) и с использованием калибровочной кривой по частоте транслокаций для гамма-излучения  $^{60}\text{Co}$  (собственные данные) с учетом значений ОБЭ, полученных в данной работе. Значения доз, оцененные по калибровочной кривой для бета-излучения, составили от 15 до 135 сЗв, а по калибровочной кривой для гамма-излучения с учетом ОБЭ трития – от 8 до 92 сЗв. Показана высокая корреляция между значениями биологических доз, реконструированных двумя способами: коэффициент корреляции равен 0,95,  $p \leq 0,001$ .

#### **Публикации по теме работы:**

1. Хаймович Т.И., Горбунова И.Н., Нагиба В.И., Иванов К.Ю. Цитогенетический эффект в соматических клетках профессионалов-атомщиков, принимавших участие в ликвидации последствий аварии на ЧАЭС. //Экологическая антропология; Минск. Белорусский комитет «Дети Чернобыля», 1999, 312-315

2. Горбунова И.Н., Нагиба В.И., Стяжкина Т.В., Иванов К.Ю., Хаймович Т.И. Оценка ОБЭ трития по цитогенетическим критериям в лимфоцитах периферической крови *in vitro*. //Потенциал российских ядерных центров и МНТЦ в тритиевых технологиях. Докл. международ. семинара. Саров. 17-21 мая 1999; Саров, 148-149

3. Khaimovich T.I., Nikanorova E.A., Akaeva E.A., Yelisova T.V., Iofa E.I., Nagiba V.I., Nilova I.N., Kostina L.N., Rubanovich A.V., Shevchenko V.A., Bogomazova A.N., Vilkina G.A., Novitskaya N.N., Kharchenko V.P., Khazins E.D., Snigiryova G.P., Reconstruction of absorbed dose by the frequency of stable and unstable chromosome aberrations in nuclear specialists at distant periods after exposure., Proceedings of IV ISTC scientific advisory committee seminar, Novosibirsk, 2001, pp. 370-377

4. Снигирева Г.П., Новицкая Н.Н., Хаймович Т.И., Иванов К.Ю., Никанорова Е.А., Нагиба В.И. и др. Реконструкция поглощенных доз по частоте у профессионалов-атомщиков в отдаленные сроки после облучения с помощью цитогенетических методов //

Сб. материалов 2-й межотрасл. научно-технич. конф. «Охрана природы и экологическая безопасность на предприятиях Минатома»; Саров, РФЯЦ-РФЯЦ-ВНИИЭФ, 2002, с.225-233.

5. Snigiryova G.P., Bogomazova A.N., Novitskaya N.N., Khazins E.D., Vilkina G.A., Gorbunova I.N., Ivanov K.Yu., Nagiba V.I., Nikanorova E.A., Khaimovich T.I., Akaeva E.A., Yelisoa T.V., Iofa E.I., Nilova I.N., Kostina L.N., Rubanovich A.V., Shevchenko V.A. The study of cytogenetic effect in the nuclear specialists of Sarov Proceed. International Conf. «Genetic Consequences of Emergency Radiation Situations» Moscow, Russia, 10-13 Yune, 2002, pp. 313-328.

6. Нагиба В.И., Горбунова И.Н., Иванов К.Ю., Никанорова Е.А., Профе О.С., Хаймович Т.И. Спонтанный уровень хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови жителей г. Саров. Сб. докл. I Междунар. Конф. «Человек и электромагнитные поля», Саров, 27-29 мая 2003г., Саров: РФЯЦ-ВНИИЭФ, 2005, с.256 – 265.

7. Нагиба В. И., Горбунова И. Н., Дудин А. В., Хаймович Т. И., Богомазова А. Н., Новицкая Н. Н., Снигирева Г. П., Акаева Э. А., Рубанович А. В. Калибровочные дозовые зависимости частоты хромосомных aberrаций в клетках крови человека при действии оксида трития *in vitro*. Оценка относительной биологической эффективности бета-излучения. Сб. докл. II Междунар. Конф. «Человек и электромагнитные поля», Саров, 28 мая – 1 июня 2007г., Саров: РФЯЦ-ВНИИЭФ, 2008, с.264 – 274.

8. Снигирева Г. П., Акаева Э. А., Богомазова А. Н., Горбунова И. Н., Дудин А. В., Елисова Т. В., Иофа Э. Л., Костина Л. Н., Нагиба В.И., Никанорова Е. А., Нилова И. Н., Новицкая Н. Н., Рубанович А. В., Хазинс Е. Д. Хаймович Т.И. Стабильные и нестабильные хромосомные aberrации в лимфоцитах периферической крови профессионалов-атомщиков, работавших с тритием и его окисью. Сб. докл. II Междунар. Конф. «Человек и электромагнитные поля», Саров, 28 мая – 1 июня 2007г., Саров: РФЯЦ-ВНИИЭФ, 2008, с.274 – 284.

9. Снигирева Г.П., Хаймович Т.И., Богомазова А.Н., Горбунова И.Н., Нагиба В.И., Никанорова Е.А., Новицкая Н.Н., Хазинс Е.Д. Цитогенетическое обследование профессионалов-атомщиков подвергавшихся хроническому воздействию бета-излучения трития. **Радиационная биология. Радиозэкология**, 2009, т. 49, №1, с. 60 – 67.