

Чередниченко О.Г.

Институт общей генетики и  
цитологии МОН РК,  
Казахстан, Алматы

**Комбинированное воздействие  
рентгеновского и  $\gamma$ -излучений  
на клетки периферической  
крови человека *in vivo* и *in vitro***

Представлены результаты изучения *in vivo* эффектов хронического влияния рентгеновского излучения на медицинских работников рентгенлабораторий, а также оценена радиочувствительность и способность лимфоцитов их периферической крови к формированию адаптивного ответа под действием дополнительного  $\gamma$ -излучения. Проведены *in vitro* эксперименты по изучению комбинированного воздействия X- и  $\gamma$ -излучений на клетки периферической крови здоровых доноров. Изучение спонтанного уровня частоты хромосомных нарушений выявило значительное повышение аберраций как хромосомного так и хроматидного типов у обследованной группы по сравнению с контролем, что свидетельствует о мутагенном эффекте факторов профессиональной среды. Обнаружена высокая радиочувствительность к дополнительному  $\gamma$ -излучению и индукция большого количества мультиабберрантных клеток. В *in vitro* экспериментах с дробным облучением в адаптирующих дозах крови здоровых доноров рентгеновскими лучами и облучение этой же крови повреждающей дозой  $\gamma$ -излучения показывает, что адаптивный ответ формируется только при однократном облучении адаптирующей дозой.

**Ключевые слова:** Хромосомные аберрации, радиочувствительность, адаптивный ответ,  $\gamma$ -излучение, рентгеновское излучение.

Cherednichenko O.G.

Institute of General Genetics and  
Cytology, Kazakhstan, Almaty

**Combined effects of x-ray and  
 $\gamma$ -radiation on cell human  
peripheral blood *in vivo*  
and *in vitro***

The results of the study *in vivo* effects of chronic influence of X-rays on rentgenlaboratory medical workers, as well as assessed the radiosensitivity and the ability of peripheral blood lymphocytes in the formation of an adaptive response to additional  $\gamma$ -radiation. Conducted *in vitro* experiments to study the combined effects of X- and  $\gamma$ - radiation on cells of peripheral blood from healthy donors. The study of the spontaneous frequency of chromosome aberrations level revealed a significant increase in chromosomal aberrations like and chromatid type in the surveyed group of radiologists compared to the control, indicating that the mutagenic effect of factors of professional environment. Correlations between age, duration of work in harmful conditions, and yield of chromosomal abnormalities have been identified. Nevertheless, some individuals retained the ability to form cells of the adaptive response of the reaction, resulting in lower overall frequency of chromosome aberrations, but of the aberrant cells. In *in vitro* experiments with fractional doses of irradiation in adapting healthy donor blood and X-ray irradiation of the same blood damaging  $\gamma$ -radiation dose it shows that the adaptive response is generated only at a single dose of irradiation adapting.

**Key words:** chromosomal aberrations, radiosensitivity, adaptive response,  $\gamma$ -radiation, x-rays.

Чередниченко О.Г.

Жалпы генетика және цитология  
институты РК БҒМ ҒК,  
Қазақстан, Алматы

**Адамдардың перифериялық  
қан жасушаларына *in vivo*  
және *in vitro* жағдайында  
рентген және  $\gamma$ -сәулеленудің  
кешенді әсері**

Медициналық рентген зертханалары қызметкерлеріне рентген сәулелерінің созылмалы әсерету тиімділігі *in vivo* жағдайында жүргізілген зерттеу нәтижелері, сондай-ақ, радиосезімділігіне баға беру және олардың лимфоциттерінің  $\gamma$ -сәулелену әсеретуіне адаптивті жауап түзуі келтірілген. X- және  $\gamma$ - сәулеленулердің адамдардың перифериялық қан жасушаларына кешенді әсерін *in vitro* жағдайында тәжірибелер жүргізілген. Рентгенологтарда хромосомдық абберациялардың кездесу жиілігі бақылау тобымен салыстырғанда жоғары болды, кәсіби жұмыс ортасы факторларының мутагенді әсері бар екендігін көрсетеді. Жеке тұлғаларда хромосомдық бұзылуларға алып келетін  $\gamma$ -сәулеленуге жоғары радиосезімталдығы мен мультиабберрантты жасушалардың басым бөлігінің индукциясы байқалады. Кейбір тұлғалардың жасушалары адаптивті жауап түзу реакциясын сақтап қалды, бірақ абберрантты жасушалардың емес, хромосомдық абберациялар жиілігінің төмендеуін байқауға болады.  $\gamma$ -сәулеленуге жоғары сезімталдылық және мультиабберрантты жасушаларының көп болуының индукциясы байқалды, алайда, кейбір тұлғаларда адаптивті жауап реакциясының түзілуіне жасушалардың қабілеттілігі сақталып қалды. *In vitro* жағдайында дені сау донорлардың қанын бейімдеу мөлшерлі рентген сәулесімен бөлшектеп сәулелендіру және осы қанды  $\gamma$ -сәулесінің қарқынды бұлдіруші мөлшерімен сәулелендіру тәжірибелері жасалды.

**Түйін сөздер:** Хромосомдық абберациялар, радиосезімділік, адаптивті жауап,  $\gamma$ -сәулелендіру, рентген саулелендіру.

**КОМБИНИРОВАННОЕ  
ВОЗДЕЙСТВИЕ  
РЕНТГЕНОВСКОГО  
И  $\gamma$ - ИЗЛУЧЕНИЙ  
НА КЛЕТКИ  
ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ  
КРОВИ ЧЕЛОВЕКА  
IN VIVO И IN VITRO****Введение**

Как известно, предварительное облучение клеток в диапазоне малых доз повышает их устойчивость к последующей экспозиции большой дозой радиации. В экспериментальных работах на разных биологических объектах показано, что ответная реакция клетки на слабое внешнее воздействие (адаптивный ответ), вероятно, является результатом каскада молекулярных событий, представляющих собой реализацию вариантов генетической программы, определяемой характером и интенсивностью внешнего воздействия [1]. В наших предыдущих исследованиях мы изучали формирование адаптивного ответа под влиянием малых доз различных факторов (радиация, тепловой шок, химические мутагены) и в перекрестных реакциях. Показано, что реакция адаптивного ответа формируется, не только в однофакторных экспериментах, но и в перекрестных реакциях, что может свидетельствовать об общности некоторых этапов, формирования адаптивного ответа. Однако, характер полученных цитогенетических нарушений, определяется природой не адаптирующего, а повреждающего агента. Аналогично, показано, что при изучении формирования адаптации к тепловому шоку и в перекрестных защитных реакциях индуцированных стауроспорином с использованием культур клеток кардиомиобластов крысы (H9c2) и миобластов мыши (C2c12) защитные эффекты адаптации культур клеток специфичны к типу повреждающего воздействия [2]. Полученные результаты согласуются с механизмом формирования адаптивного ответа, предложенным Бондарчуком, который также подтверждает, что повышение радиорезистентности может быть вызвано не только облучением клеток в малых дозах, но и обработкой их малыми дозами других физических и химических агентов. Это связано с тем, что плазматическая мембрана является очень чувствительным компонентом клетки, реагирующим на тонкие изменения окружающей среды, и запускающих в ответ на них каскады ферментативных реакций приводящих к индукции апоптоза, дифференциального деления, репарации ДНК или других клеточных ответов в зависимости от специфики конкретной ситуации [3]. В связи с этим нам показалось ин-

интересным изучать комбинированное воздействие двух видов электромагнитных излучений – рентгеновского и  $\gamma$ -, разделение между которыми весьма условно, т.к. их энергетические диапазоны перекрываются в широкой области энергий. Тем не менее, гамма-квантами являются фотоны с высокой энергией и чрезвычайно малой длиной волны –  $< 5 \times 10^{-3}$  нм, а фотоны рентгеновского излучения имеют энергию от 100 эВ до 250 кэВ, и длиной волны 0,005 – 10 нм. При этом, существует некоторое разделение на рентген – обладающий наибольшей энергией фотона и частотой излучения (и наименьшей длиной волны), который используется преимущественно в промышленных целях и по своим характеристикам более близок к  $\gamma$ -излучению; и рентген характеризующийся наименьшей энергией фотона и частотой излучения (и наибольшей длиной волны), используемый как правило в медицинских и бытовых целях. Выбор именно этого типа рентгеновского излучения для своих экспериментов продиктован несколькими причинами – во-первых, именно ему подвергаются люди при медицинских обследованиях и работники рентгенлабораторий, а во-вторых, он по своим физическим характеристикам значительно отличается от  $\gamma$ -излучения.

Для изучения хронического влияния малых доз мутагенных факторов достаточно удобной моделью является когорта людей, профессионально подвергающихся воздействию радиации. В отличие от жителей экологически неблагоприятных регионов, где порой очень трудно вычленить преимущественный тип мутагенного воздействия, в данном случае мы можем даже говорить о типе радиационного воздействия. Ранее нами проведено обследование группы людей, подвергающихся  $\gamma$ -излучению в силу своей профессиональной деятельности [4]. Настоящая работа посвящена оценке хронического влияния рентгеновского излучения на медицинских работников рентгенлабораторий, изучению радиочувствительности и способности лимфоцитов их периферической крови к формированию адаптивного ответа под действием  $\gamma$ -излучения, а также проведены *in vitro* эксперименты по изучению комбинированного воздействия R- и  $\gamma$ - излучений на лимфоциты периферической крови человека.

### Материалы и методы исследования

Проведено изучение частоты и спектра aberrаций хромосом у 10 человек, работающих

в медицинской рентгеновской лаборатории в возрасте от 25 до 59 лет, стаж работы от 4 до 31 лет. Контрольная группа состояла из двух подгрупп – жители п.Таусугур Алматинской области (41 человек), и г. Алматы (15 человек), не имевшие профессионального контакта с источниками ионизирующей радиации и не подвергавшиеся в последний год рентгеновскому обследованию. Эксперименты по изучению радиочувствительности и индукции адаптивного ответа проведены у 10 человек из каждой выборки. Образцы периферической крови отбирали в стерильных условиях из локтевой вены в гепаринизированные флаконы.

Культивирование лимфоцитов и приготовление препаратов проводили по следующей методике: к 0,5 мл периферической крови добавляли к 4,5 мл среды культивирования, состоящей из 80% среды HAMs с глутамином (2мМ), 20% сыворотки КРС (крупного рогатого скота), пенициллина 100 ед/мл, стрептомицина 100 ед/мл. Деление лимфоцитов стимулировали 2% р-ром ФГА (Панэко, Россия). Клетки инкубировали при 37°С в течение 48 часов. Для накопления метафазных пластинок в культуральную среду за 2 часа до фиксации вводили колхицин в конечной концентрации 0,8 мкг/мл. Для получения цитологических препаратов клетки гипотонизировали 0,075М KCl при 37°С 15 минут, фиксировали смесью метиловый спирт/ледяная уксусная кислота (3/1) и окрашивали 4% раствором красителя Гимза [5]. На каждый вариант просчитывали не менее 200 метафаз. При статистическом анализе определяли число клеток с aberrациями, а также число и тип aberrаций на 100 проанализированных метафаз. Использовали стандартные методы статистического анализа [6].

В работе использовали также микроядерный тест в сочетании с цитокинетическим блоком цитохалазином В, который добавляли на 44 часу культивирования, фиксацию проводили на 72 часу культивирования [5]. Учет микроядер осуществляли при подсчете 1000 двуядерных клеток на каждый вариант [7].

Радиационная обработка: – цельную кровь в стеклянных флаконах подвергали воздействию  $\gamma$ -излучения на линейном электронном ускорителе ЭЛУ-2 с номинальной энергией ускоренных электронов 1,5 МЭВ при мощности доз для 0,05 Гр – 0,05 Гр/мин и для 2 Гр – 0,1 Гр/мин; воздействию рентгеновского излучения на медицинской рентгеновской установке в дозах 0,033 Гр; 0,066(0,033+0,033) Гр; 0,099 (0,033+0,033+0,033)

Гр; 0,13 (0,033+0,033+0,033+0,033) Гр при мощности дозы 1 Гр/мин в G<sub>0</sub>-фазе клеточного цикла. Суммарную дозу рентгеновского излучения набирали последовательными облучениями образцов крови по 0,033 Гр с 0,5 ч. интервалом.

Адаптивный ответ индуцировали облучением образцов крови в G<sub>0</sub>-стадии клеточного цикла адаптирующими дозами (0,05 Гр  $\gamma$ -излучения или рентгеновским излучением (0,033-0,13 Гр), повреждающее воздействие (2 Гр) проводили через 4 ч. на этой же стадии клеточного цикла. Далее клетки стимулировали ФГА и

культивировали по описанной выше методике.

### Результаты исследования и их обсуждение

*Изучение частоты хромосомных aberrаций в лимфоцитах лиц, работающих в рентгенлаборатории*

Проведенный цитогенетический анализ работников рентгенлабораторий выявил повышенный выход, как числа aberrантных клеток, так и числа aberrаций (хромосомного и хроматидного типов) (табл. 1).

**Таблица 1** – Изучение радиочувствительности и способности к формированию адаптивного ответа под воздействием  $\gamma$ -излучения, у лиц профессионально подвергающихся рентгеновскому излучению

Тип нарушений	Рентгенологи	Контроль (Алматы),%	Контроль (Таусугур),%
Результаты цитогенетического анализа			
Клеток с aberrациями	6,30±0,54*	1,86±0,50	0,87 ± 0,10
Всего aberrаций	7,33±0,58*	1,86±0,50	0,87 ± 0,10
Хромосомного типа (всего)	4,79±0,47*	0,24±0,50	0,19 ± 0,05
Разрывы, фрагменты	3,36±0,40	0,24±0,50	0,19 ± 0,05
Дицентрики+кольца	0,86± 0,10	0	0
транслокации	0,56± 0,09	0	0
Хроматидного типа	2,54±0,30*	1,62±0,50	0,68 ± 0,09
Облучение 2 Гр (радиочувствительность)			
Клеток с aberrациями	31,30±1,04**	26,00±4,40	27,00±0,99
Всего aberrаций	173,10±8,50*	31,00±4,60	30,20±1,03
Хромосомного типа (всего)	169,80±8,10*	20,00±1,26	22,00±0,93
Разрывы, фрагменты	95,80±4,50	14,00±1,10	16,00±0,81
Дицентрики+кольца	51,30±1,12	4,00±0,62	3,00±0,38
Транслокации	22,60±0,96	2,00±0,44	3,00±0,38
Хроматидного типа	3,40±0,40	11,00±3,10	8,20±0,61
Облучение 0,05/2 Гр (адаптивный ответ)			
Клеток с aberrациями	28,70±1,01	17,00±3,80	22,60±0,93
Всего aberrаций	112,40±7,10***	18,00±3,90 <sup>2*</sup>	22,60±0,93***
Хромосомного типа (всего)	110,90±7,00***	10,00±3,00***	15,60±0,81***
Разрывы, фрагменты	68,20±1,04	8,00±2,70	12,60±0,74
Дицентрики+кольца	35,60±1,07	1,00±0,30	2,00±0,31
Транслокации	7,20±0,58	1,00±0,30	1,00±0,22
Хроматидного типа	1,30±0,25***	8,00±2,70	7,00±0,57

\* Достоверность различий по сравнению с контролем p<0,01

\*\* Достоверность различий по сравнению с контролем p>0,05

\*\*\* Достоверность различий по сравнению с 2 Гр p<0,01

<sup>2\*</sup> Достоверность различий по сравнению с 2 Гр p<0,05

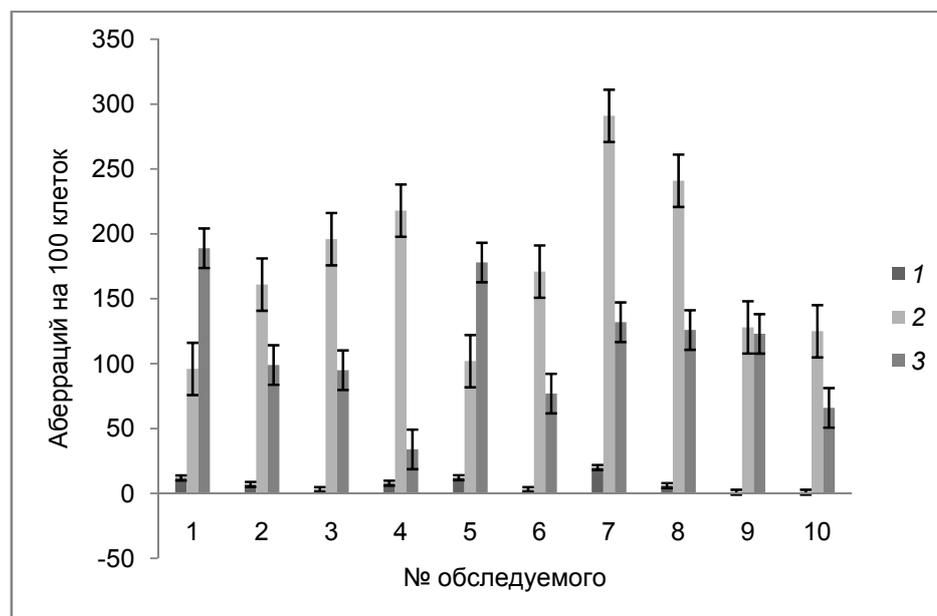
Средняя частота клеток с хромосомными нарушениями у рентгенологов составила  $6,3 \pm 0,54\%$ , что более чем в три раза превышает контрольный уровень (г. Алматы) и в 7 раз (п. Таусугур). Индивидуальные колебания частот клеток с хромосомными нарушениями составили в основном 1-10%, у 5 человек она была относительно нормальной 1-3%, у 4-х 5-10% и у одной женщины обнаружено 19% aberrantных клеток, что вероятно связано с ее индивидуальной радиочувствительностью. Спектр хромосомных нарушений был представлен преимущественно aberrациями хромосомного типа, частота которых была в два раза выше  $4,79 \pm 0,47\%$ , чем aberrаций хроматидного типа  $2,54 \pm 0,3\%$ . При этом почти треть aberrаций хромосомного типа составляли обменные aberrации – дицентрики, кольца и транслокации ( $1,42 \pm 0,16\%$ ). Все это свидетельствует о мутагенном эффекте факторов профессиональной среды. Корреляции между возрастом, продолжительностью работы во вредных условиях и выходом хромосомных нарушений, хромосомного типа в частности, не было отмечено.

*Радиочувствительность и адаптивный ответ индуцированный  $\gamma$ -излучением в лимфоцитах рентгенологов.*

В большинстве мониторинговых исследований негативное влияние средовых факторов оценивается лишь по частоте хромосомных

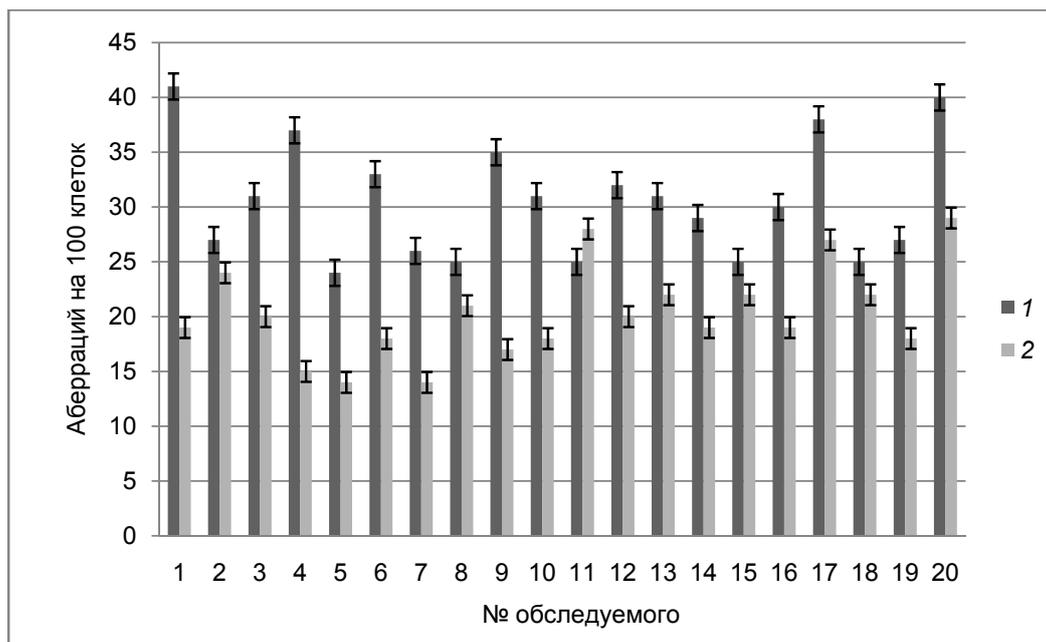
aberrаций, не учитывая нарушений других генетических функций клеток. Исходя из этого, было изучено состояние радиочувствительности и адаптивного ответа у людей, хронически подвергающихся радиационному воздействию. Определение доли клеток с хромосомными aberrациями часто используют в качестве надежного количественного показателя радиочувствительности, т.к. с одной стороны, число таких поврежденных клеток четко зависит от дозы ионизирующего излучения, а с другой – отражая его летальное действие, этот критерий хорошо коррелирует с количеством погибающих клеток, оцениваемым по снижению способности к клонообразованию.

Для оценки радиочувствительности лимфоциты периферической крови рентгенологов и здоровых доноров (рис. 1) подвергали облучению (2 Гр  $\gamma$ -излучения) на  $G_0$  стадии клеточного цикла. Радиочувствительность оценивали по степени увеличения хромосомных aberrаций после *in vitro* облучения лимфоцитов периферической крови 2 Гр  $\gamma$ -излучения, по сравнению с аналогичными данными контрольной группы. Контрольным вариантом служили данные по индукции радиочувствительности и адаптивного ответа в лимфоцитах периферической крови здоровых доноров, также находящихся на  $G_0$ -стадии клеточного цикла (рис. 2).



**Рисунок 1** – Частота хромосомных aberrаций в лимфоцитах рентгенологов при изучении радиочувствительности и формировании адаптивного ответа.

1 – спонтанный уровень; 2 – облучение 2 Гр; 3 – облучение 0,05/2 Гр.



**Рисунок 2** – Частота хромосомных аберраций в лимфоцитах здоровых доноров (1-10 – г. Алматы; 11-20 – п. Таусугур) при изучении радиочувствительности и формировании адаптивного ответа.

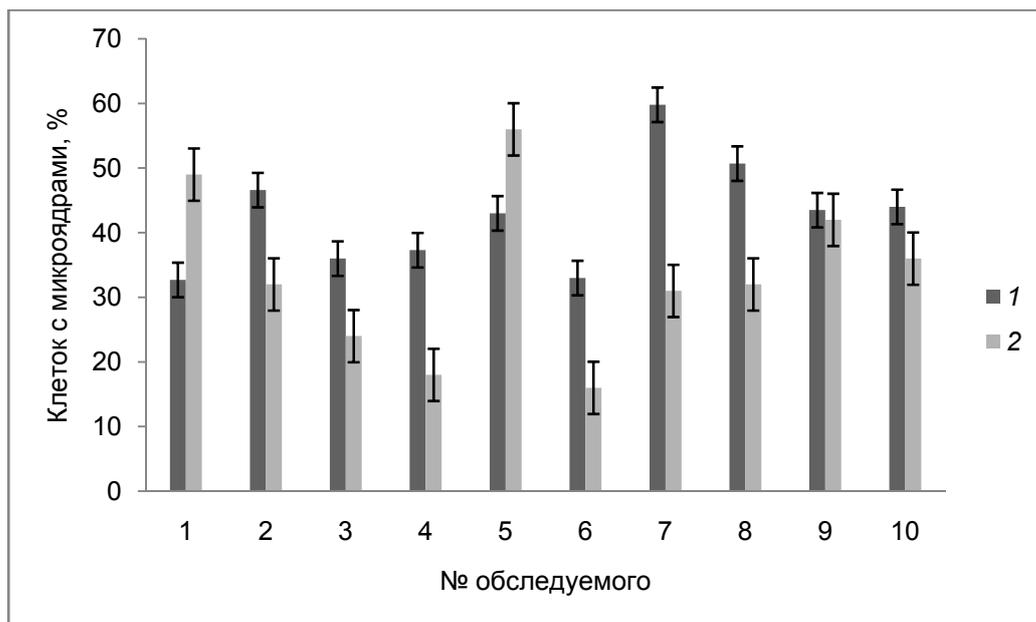
1 – облучение 2 Гр; 2 – облучение 0,05/2Гр.

Полученные данные показывают, что радиочувствительность у рентгенологов исходя из количества клеток несущих хромосомные аберрации в среднем по группе была несколько выше  $31,3 \pm 1,04\%$ , чем у здоровых доноров  $26,0 \pm 4,4\%$  (Алматы) и  $27,0 \pm 0,99\%$  (п. Таусугур), (табл.1), но эти различия не достоверны ( $p > 0,05$ ). Однако при анализе частот самих аберраций обнаружено, что при облучении лимфоцитов рентгенологов дозой 2 Гр  $\gamma$ -излучения индуцируется от 3,7 до 7,7 аберраций на одну абберантную клетку. В среднем по группе более 170 аберраций на 100 клеток, т.е. наблюдается высокий радиосенсибилизирующий эффект.

К таким результатам привело большее количество мультиабберантных клеток среди членов данной когорты людей. У отдельных индивидуумов они составляли до 30% от количества клеток, содержащих хромосомные нарушения. Мультиабберантные клетки содержали по несколько дицентриков с соответствующим или избыточным содержанием ацентрических фрагментов, центрические и/или ацентрические кольца, транслоцированные хромосомы, встречались три- и полицентрические хромосомы. Практически все встречаемые аберрации были хромосомного типа и почти половина из них бы-

ли обменного характера – дицентрики, кольца и транслокации.

Эксперименты по изучению способности к формированию реакции адаптивного ответа проводили по схеме с воздействием адаптирующих и повреждающих доз  $\gamma$ -излучения на лимфоциты периферической крови рентгенологов (0,05/2 Гр) в  $G_0$ -стадии с 4 ч. Интервалом и анализировали частоту хромосомных аберраций (табл.1, рис.1) и микроядер в лимфоцитах (рис.3). В этих условиях средняя групповая частота клеток с хромосомными нарушениями достоверно не изменилась –  $28,7 \pm 1,01\%$ , по сравнению с воздействием дозы 2 Гр  $\gamma$ -излучения –  $31,3 \pm 1,04\%$  ( $p > 0,05$ ). Однако, если исходить из количества самих аберраций, то их частота снизилась довольно значительно – с 173,1 до 112,4, аберраций на 100 клеток, т.е. примерно на 35% ( $p < 0,01$ ). Достоверное снижение частоты аберраций происходит за счет снижения на 30% двойных разрывов и фрагментов, почти двухкратного снижения дицентриков+колец и трехкратного снижения частоты транслокаций. При незначительной частоте аберраций хроматидного типа, по сравнению с аберрациями хромосомного типа, их частота также достоверно снизилась при индукции адаптивного ответа ( $p < 0,01$ ).



**Рисунок 3** – Частота микроядер в лимфоцитах рентгенологов при изучении радиочувствительности и формировании адаптивного ответа.

1 – облучение 2 Гр; 2 – облучение 0,05/2Гр.

Тем не менее, при индивидуальном анализе обнаруживается гетерогенность обследованной группы – у семерых (№ 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10) рентгенологов формируется хорошо выраженный адаптивный ответ, у 1 (№ 9) наблюдается отсутствие данной реакции, а у двоих (№ 1, 5) наблюдается радиосенсибилизация (рис. 1). Аналогичная картина наблюдается и при изучении микроядер в лимфоцитах.

*Изучение комбинированного воздействия рентгеновского и  $\gamma$ -излучений на клетки периферической крови человека in vitro*

Индукция большого количества мультиабберрантных клеток и самих абберраций в лимфоцитах периферической крови у обследованной группы рентгенологов под воздействием  $\gamma$ -излучения требует дополнительных исследований. На данном этапе, мы склонны объяснять эти данные результатом комбинированного воздействия рентгеновского и  $\gamma$ -излучения. В связи с этим были проведены эксперименты in vitro с дробным (по 0,033 Гр) облучением в адаптирующих дозах крови здоровых доноров рентгеновскими лучами на медицинской установке

(грубая имитация ежедневной работы рентгенологов), а затем облучением этой же крови через 4 ч. повреждающей дозой 2 Гр  $\gamma$ -излучения (табл. 2).

Как видно из представленных данных адаптивный ответ формируется только при однократном облучении адаптирующей дозой. Неоднократное (дробное) облучение, т.е. накопление нескольких адаптирующих доз X-излучения, приводит к увеличению частоты хромосомных абберраций при облучении образцов крови повреждающей дозой 2 Гр (радиосенсибилизирующий эффект), что соответствует результатам, полученным у рентгенологов, которые постоянно подвергаются воздействию ионизирующего излучения в малых дозах и демонстрируют повышенную радиочувствительность. Кроме того, наблюдается тенденция к увеличению частоты абберраций на одну абберрантную клетку – от 1,3 при двухкратном облучении адаптирующей дозой до 1,8 при четырехкратном облучении, что также соотносится, хотя и не в такой степени, с результатами, полученными у рентгенологов.

**Таблица 2** – Комбинированное воздействие рентгеновского (X) (дробное адаптирующее) и  $\gamma$ -излучения (повреждающее) на лимфоциты человека *in vitro*

Вариант	Клеток аберрациями	Всего аберраций	Хромосом-ного типа	Хроматид-ного типа
0,033 Гр(X)	3,0 $\pm$ 1,21	3,0 $\pm$ 1,21	2,0 $\pm$ 0,98	1,0 $\pm$ 0,70
0,033(X)/2 Гр ( $\gamma$ )	15,0 $\pm$ 2,52*	17,0 $\pm$ 2,66*	13,0 $\pm$ 2,38*	4,0 $\pm$ 1,38*
0,066 Гр(X)	5,0 $\pm$ 1,54	6,0 $\pm$ 1,68	4,0 $\pm$ 1,38	2,0 $\pm$ 0,98
0,066(X)/2 Гр ( $\gamma$ )	35,0 $\pm$ 3,37	45,0 $\pm$ 3,52	38,0 $\pm$ 3,43	7,0 $\pm$ 1,80
0,099 Гр(X)	6,0 $\pm$ 1,68	7,0 $\pm$ 1,80	5,0 $\pm$ 0,98	2,0 $\pm$ 0,98
0,099(X)/2 Гр ( $\gamma$ )	30,0 $\pm$ 3,24	49,0 $\pm$ 3,53	41,0 $\pm$ 3,48	8,0 $\pm$ 1,92
0,13 Гр(X)	8,0 $\pm$ 1,92	9,0 $\pm$ 2,02	8,0 $\pm$ 1,92	1,0 $\pm$ 0,70
0,13(X)/2 Гр ( $\gamma$ )	34,0 $\pm$ 3,35	61,0 $\pm$ 3,45	56,0 $\pm$ 3,51	5,0 $\pm$ 0,98
2 Гр $\gamma$ -излучения (г. Алматы)	26,0 $\pm$ 4,40	31,0 $\pm$ 4,60	20,0 $\pm$ 4,00	11,0 $\pm$ 3,10
2 Гр $\gamma$ -излучения (п. Таусу-гур)	27,0 $\pm$ 0,99	30,2 $\pm$ 1,03	22,0 $\pm$ 0,93	8,2 $\pm$ 0,61

В аналогичных исследованиях проведенных нами ранее при изучении профессионалов-«физиков», контактирующих с источниками  $\gamma$  – излучения частота хромосомных аберраций составила 13,7 $\pm$ 1,1%, что в два раза выше, чем у исследованной группы рентгенологов [4]. Вероятно, это связано с различием, интенсивности/эффективности действующих типов излучения, хотя и в той и другой группе воздействие не превышало предельно безопасных норм. Индивидуальные колебания частот хромосомных аберраций у них варьировали в пределах 8-17%. Корреляции между возрастом и продолжительностью работы во вредных условиях и выходом хромосомных нарушений также как у рентгенологов не было отмечено. Такая вариация соответствует сводке данных по индивидуальной изменчивости радиочувствительности [8], где показано, что в популяциях человека существует диапазон распределения особей по радиочувствительности: большая часть особей характеризуется средней чувствительностью к действию ионизирующей радиации, 14-20% оказываются заметно более радиорезистентными (гипочувствительными), а 10-20% – заметно более радиочувствительными (гиперчувствительными).

Разница в реакции на радиацию между гипо- и гиперчувствительными особями может быть многократной. В мировой литературе есть много данных, говорящих о разной индивидуальной радиочувствительности. Например, обнаружена широкая индивидуальная изменчивость по

частоте вызванных радиацией аберраций хромосом в лимфоцитах периферической крови человека при одинаковой радиационной нагрузке [9]. При этом чувствительность людей к малым дозам облучения особенно велика: разные люди различались по этому признаку в 6,4 раза, а при дозах свыше 2,5 Гр – только в полтора раза [10]. При этом индивидуальные особенности в реакциях на лучевое воздействие обнаруживаются при однократных, фракционированных и хронических воздействиях в малых и больших дозах. Проявления индивидуальной радиорезистентности обусловлены специфическими и неспецифическими реакциями организма в ответ на облучение. В настоящее время выделены три компонента индивидуальной радиорезистентности: стабильный, полустабильный и лабильный. Стабильный – генетически детерминирован видом, полом, конституциональными особенностями и радиочувствительностью клеток критических систем. Полустабильный – обусловлен эмбриогенетическим, ранним постнатальным развитием и проявляется в функциональной активности основных управляющих систем организма. Лабильный – определяется функциональным состоянием индивидуума на данный момент времени. Стабильный и полустабильный компоненты характеризуют врожденную, а лабильный – приобретенную радиорезистентность [11]. Так как нами не обнаружено корреляции между частотой хромосомных нарушений, возрастом и стажем работы, вероятно, имеет место влияние, в той или иной степени,

всех, вышеперечисленных, компонент, однако частота хромосомных нарушений в 19% у одной женщины, со средними показателями возраста и стажа работы, скорее всего, обусловлена врожденной радиочувствительностью.

При хроническом облучении играют роль такие популяционные процессы, как, например, элиминация повреждений в ходе физиологического обновления клеточного состава, причем преимущественно элиминируются клетки с нарушениями и размножаются клетки с более резистентным генотипом, что приводит к снижению радиочувствительности популяции. С другой стороны, возможно возникновение генетической нестабильности, приводящей к возрастанию частоты генетических и функциональных нарушений [11]. В связи с этим, для полноты и объективности оценки действия генотоксикантов необходимо учитывать также их влияние и на универсальные защитные механизмы от экстремальных воздействий, которые клетки и организмы выработали в процессе эволюции, в виде радиочувствительности и радиоадаптивного ответа [12, 13]. Сведения, имеющиеся в отношении изменения этих генетически детерминированных функций, пока остаются разноречивыми [14,15]. По-видимому, нужны исследования этого вопроса в связи с условиями воздействия, типами воздействующих факторов их комбинаций и множества других подходов.

При изучении степени радиочувствительности и адаптированности (защищенности) рентгенологов от повреждающего воздействия высоких доз радиации при облучении их лимфоцитов 2 Гр  $\gamma$ -излучения, мы предполагали, что в качестве адаптирующих доз может выступать хроническое воздействие радиации в малых дозах, которое постоянно воздействует на организм при профессиональном контакте с радиоактивными источниками. Полученные данные, напротив, показали высокий радиосенсибилизирующий эффект, причины которого на данный момент неясны, особенно если учесть, что он проявляется не в увеличении клеток с аберрациями, а самих аберраций, т.е. как было показано выше, обнаружено большее количество мультиаберрантных клеток (МАК). Классические МАК объект пристального внимания радиобиологов и исследователей, занимающихся изучением механизмов образования хромосомных аберраций. Они встречаются довольно редко и при этом нет промежуточного класса в распределении аберраций по клеткам между сильно и слабо поврежденными, именно поэтому в радиобиологии содержащиеся в них аберрации не включают в общую частоту хромосомных нарушений [16, 17]. Как показано на рисунке 4 количество клеток с увеличением в них аберраций уменьшается, т.е. имеется промежуточный класс в распределении аберраций по клеткам.



**Рисунок 4** – Распределение аберрантных клеток по числу содержащихся в них аберраций хромосомного типа

1 – облучение 2 Гр; 2 – облучение 0,05/2Гр.

Статистическая обработка показала, что полученное распределение не соответствует распределению Пуассона (для редко наблюдаемых событий). В связи с этим все наблюдаемые aberrации учитывали совместно. Возможно эффект индукции большого количества aberrаций в лимфоцитах рентгенологов под воздействием 2 Гр  $\gamma$ -излучения связан с комбинированным воздействием двух видов электромагнитных излучений – рентгеновского и  $\gamma$ -, возможно он обусловлен синергизмом в действии радиации. Известно, что эффект радиации может многократно усиливаться при ее воздействии одновременно с другими факторами среды – химическими (пестициды, тяжелые металлы, диоксины и др.) и физическими (электромагнитные, температурные воздействия) загрязнениями [18]. Известно также, что на фоне небольшого по величине хронического облучения разовое кратковременное дополнительное облучение дает эффект, много более значимый, чем при простом суммировании этих доз [19]. Вероятно, эффект такого взаимодействия радиации с другими факторами риска основан на сенсбилизации (повышении чувствительности) организма, испытывающего воздействие малых доз облучения к химическим мутагенам и канцерогенам.

В ранее проведенных исследованиях профессионалов-«физиков», контактирующих с источниками  $\gamma$ -излучения и облучение их крови дозой 2 Гр, в противоположность данным, полученным у рентгенологов (радиосенсибилизация), показано, что в среднем происходит снижение числа как aberrантных клеток, так и общего числа aberrаций по сравнению с контролем (доноры не имеющие профессионального контакта с источниками ионизирующей радиации) (26%/16% и 30,2%/26,2%, соответственно ( $P \leq 0,01$ )). Эти данные свидетельствуют о повышении радиорезистентности клеток у облученной когорты по сравнению с контролем, т.е. в данном случае хронический контакт с источниками ионизирующей радиации (профессиональный контакт) стимулирует выработку защитных факторов. Отсутствие у данных лиц мультиaberrантных клеток и повышение радиорезистентности вероятно можно объяснить их контактом с источниками  $\gamma$ -излучения и воздействие этого же типа излучения в качестве повреждающего и адаптирующего воздействия.

Известно, что в лимфоцитах здоровых доноров под влиянием малых доз радиации формируется достаточно хорошо выраженный адаптивный ответ. В литературе имеется достаточно

много сведений о том, что нарушение некоторых клеточных функций приводит к ослаблению или полному подавлению этой защитной реакции [20-23]. Не исключено, что воздействие факторов внешней среды, в том числе, длительное воздействие малых доз ионизирующей радиации, может каким-то образом, отражаться на процессе формирования адаптивной реакции нарушая работу ферментативных систем или контролирующих их генов. Индукция адаптивного ответа по используемой для экспериментов схеме у большинства рентгенологов, тем не менее, приводила к формированию адаптивного ответа, причем частота клеток с aberrациями также достоверно не изменилась, но значительно снизилось количество самих aberrаций. Вероятно, повреждающая доза (2 Гр), независимо от индивидуума, состояния здоровья и подверженности его различным неблагоприятным факторам, способна индуцировать количество поврежденных клеток в коридоре частот примерно 25-35%. Таким образом, лимфоциты периферической крови рентгенологов, в среднем по группе, несмотря на высокую радиочувствительность, сохраняют способность к формированию адаптивного ответа.

Во всех вариантах исследования, включая проведенное ранее изучение лиц, профессионально контактирующих с источниками  $\gamma$ -излучения была выявлена гетерогенность группы как по радиочувствительности (наличие или отсутствие состояния защищенности), так и по способности к формированию адаптивного ответа (формирование АО, отсутствие достоверной реакции, радиосенсибилизация).

Полученные данные подтверждают предположение о гетерогенности популяций по способности к формированию адаптивного ответа [13]. Объяснить их, вероятно, можно наличием определенных нарушений, возможно, генетических, влияющих на проявление реакций адаптивного ответа, например, снижением репаративной способности, подавлением синтеза необходимых белков и т.д.

Проведение экспериментов *in vitro* демонстрирует, что фракционированное радиационное воздействие подавляет защитные функции клеток, в частности адаптивный ответ, и тенденцию к увеличению частоты aberrаций на одну aberrантную клетку с накоплением адаптирующих доз.

Рассматривая в целом полученные данные по облучению лимфоцитов рентгенологов повреждающей дозой 2 Гр, ранее проведенные анало-

гичные исследования людей, профессионально контактирующих с источниками  $\gamma$ -излучения и эксперименты *in vitro*, можно предположить, что состояние радиорезистентности формируется в большей степени к соответствующему типу излучения и наблюдается радиосенсибилизация при их комбинации на фоне фракционированного воздействия малых доз одного из них. Данное предположение неоднозначно и требует дополнительных исследований.

Таким образом, проведена оценка действия рентгеновского и  $\gamma$ -излучения и их комбинаций в экспериментах *in vivo* и *in vitro*. Установлено значительное превышение частоты

хромосомных нарушений в группе рентгенологов ( $7,3 \pm 0,58\%$ ) по сравнению с контролем. При этом в исследованной группе, в отличие от жителей экологически неблагоприятных регионов [24-25], в определенной степени сохраняется способность к формированию адаптивного ответа. Обнаружена высокая радиочувствительность и индукция большого количества мультиабберрантных клеток при комбинированном рентгеновском (*in vivo*) и  $\gamma$ - (*in vitro*) излучениях. В *in vitro* экспериментах обнаружена та же тенденция комбинированного воздействия рентгеновского и  $\gamma$ -излучения, что и у рентгенологов.

### References

- 1 Zasukhina GD (2008) The adaptive response – general biological rule: facts, hypotheses, questions. *Radiation Biology. Radioecology* [Adaptivnyi otvet – obshchebiologicheskaya zakonomernost': fakty, gipotezy, voprosy. Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya] 4:464-473. (In Russian)
- 2 Monastyrskaya EA, Andreeva LV, Duchan MR (2003) Direct and cross-protective effects of adaptation to heat in the cell culture. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* [Priamyie i perekrestnyie zashchitnyie efekty adaptatsii k teplu v kul'ture kletok. Biulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny] 2:147-150. (In Russian)
- 3 Bondarchuk IA (2003) Analysis of the role of DNA repair, cell cycle regulation and apoptosis in a radiation-induced adaptive response of mammalian cells. *Radiation Biology. Radioecology* [Analiz roli reparatsii DNK, reguliatsii kletochnogo tsikla i apoptoza v radiatsionno-indutsirovannom adaptivnom otvete kletok mlekopitaiushchikh. Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya] 1:19-28. (In Russian)
- 4 Akhmatullina NB, Makarenko NG, Iskandarova KA, Cherednichenko OG, Kim S (2002) Mathematical analysis of the effects of low doses of radiation. *Radiation Biology. Radioecology* [Matematicheskii analiz effektivov mal'kh doz radiatsii. Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya] 6:614-617. (In Russian)
- 5 Moorhead PS, Nowell PC, Mellman WJ (1960) Chromosome preparations of leucocytes cultured from human peripheral blood, *Experimental Cell Research*, 20: 613-616. DOI:10.1016/0014-4827(60)90138-5
- 6 Plokhinskii NA (1967) Algorithms biometrics [Algoritmy biometrii]. Moscow, Russia. ISBN 1702060000. (In Russian)
- 7 Fenech M, Chang W P, Kirsch-Volders M, Holland N, Bonassi S, Zeiger E (2003) HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures, *Mutat. Res.*, 534:65–75. DOI:10.1016/S1383-5718(02)00249-8
- 8 Iablokov A.V. (2002) The myth of small doses of radiation safety [Mif o bezopasnosti mal'kh doz radiatsii]. Moscow, Russia. ISBN 5 – 901815 – 04. (In Russian)
- 9 Rubanovich AV (2006) The theory and practice of construction of calibration curves in Biodosimetry. *Radiation Biology. Radioecology* [Teoriya i praktika postroeniia kalibrovannykh krivykh v biodozimetrii. Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya] 46:447-456. (In Russian)
- 10 Gaziev AI (2011) Low efficiency of DNA repair critical damage caused by small radiation doses. *Radiation Biology. Radioecology* [Nizkaya effektivnost' reparatsii kriticheskikh povrezhdenii DNK, vyzvaemykh malymi dozami radiatsii. Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya] 5:512-529. (In Russian)
- 11 Darenskaia NG, Korotkevich AO, Maliutina TS, Nasonova TA (2000) Individual radioresistance and the principles of its formation. *Aerospace and Environmental Medicine* [Individual'naya radiorezistentnost' i printsipy ee formirovaniia. Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina] 5:32-37. (In Russian)
- 12 Serebrianyi AM, Aleshchenko AV, Gotlib VIa, Kudriashova OV, Semenova LP, Pelevina II (2011) Radiation adaptive response as stress-response cells. *Radiation Biology. Radioecology* [Radiatsionnyi adaptivnyi otvet kak stress-reaktsiia kletki. Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya] 4:399-404. (In Russian)
- 13 Pelevina II, Aleshchenko AA, Antoshchina MM, Riabchenko NI, Semenova LP, Serebrianyi AM (2007) Individual variability in the manifestation of the adaptive response of human cells to the effects of ionizing radiation. The approaches to its definition. *Radiation Biology. Radioecology* [Individual'naya variabelnost' v proiavlennii adaptivnogo otveta kletok cheloveka na vozdeistvie ioniziruiushchei radiatsii. Podkhody k ee opredeleniiu. Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya] 6: 658-666. (In Russian)
- 14 Akleev AV, Aleshchenko AV, Gotlib VIa, Kudriashova OV, Semenova LP, Serebrianyi AM, Khudiakova OI, Pelevina II (2004) Adaptive capacity of lymphocytes in the blood of inhabitants of the Southern Urals, exposed to chronic radiation. *Radiation Biology. Radioecology* [Adaptivnye sposobnosti limfotsitov krovi u zhitelei Iuzhnogo Urala, podverghshikhsia khronicheskomu oblucheniiu. Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya] 4:426-431. (In Russian)

- 15 Vasil'eva IM, Unzhakov SV, Meliksetova IA (1995) The adaptive response in lymphocytes of children from areas with high background ionizing radiation. Radiation Biology. Radioecology [Adaptivnyi otvet v limfotsitakh detei iz zony s povyshennym fonom ioniziruiushchei radiatsii. Radiatsionnaia biologiiia. Radioekologiiia] 5:662-664. (In Russian)
- 16 Aseeva EA, Snigireva GP, Neverova AL, Novitskaia NN, Khazins ED, Domracheva EV (2009) Cells with multiple chromosomal abnormalities in a group of persons exposed to radiation in different situations, and their possible biological role. Radiation Biology. Radioecology [Kletki s mnozhestvennymi khromosomnymi narusheniiami v gruppakh lits, podvergshikhsia oblucheniiu pri razlichnykh situatsiakh, i ikh vozmozhnaia biologicheskaiia rol'. Radiatsionnaia biologiiia. Radioekologiiia] 5:552-562. (In Russian)
- 17 Domracheva EV, Rivkind NB, Shklovskii-Kordi NE, Vorob'ev AI (1997) Multi Aberrant cells from residents of the territories contaminated with radionuclides due to the accident at the Chernobyl nuclear power plant, and the liquidators of the accident. Problems of Hematology and Blood Transfusion [Mul'tiaberrantnye kletki u zhitelei territorii, zagriaznennykh radionuklidami v rezul'tate avarii na Chernobyl'skoi atomnoi stantsii, i uchastnikov likvidatsii etoi avarii. Problemy gematologii i perelivaniia krovi] 2:12-19. (In Russian)
- 18 Petin VG, Zhuravskaia GL (2015) Influence of intensity of action of the agent on the manifestation of synergy. Radiation Biology. Radioecology [Vliianie intensivnosti deistvuiushchikh agentov na proiavlenie sinergicheskogo vzaimodeistviia . Radiatsionnaia biologiiia. Radioekologiiia] 6:598-607. (In Russian)
- 19 Pelevina II, Aleshchenko AV, Antoshchina MM, Biriukov VA, Reva EV, Minaeva NG (2015) Change radiosensitivity after irradiation in small doses, possible mechanisms and patterns. Radiation Biology. Radioecology [Izmenenie radiochuvstvitel'nosti posle oblucheniia v mal'kh dozakh, vozmozhnye mekhanizmy i zakonomernosti. Radiatsionnaia biologiiia. Radioekologiiia] 1:57-62. (In Russian)
- 20 Pelevina II, Oradovskaia IV, Mansurova IuG, Aleshchenko AV, Antoshchina MM, Kudriashova OV, Lizunova E Iu, Nikonova MF, Osipov AN, Riabchenko N I, Feoktistov VV, Serebrianyi A M (2010) Communication molecular cell performance and immune status of blood lymphocytes accident liquidators of the Chernobyl. Radiation Biology. Radioecology [Sviaz' molekuliarno-kletochnykh pokazatelei i immunnogo statusa u limfotsitov krovi likvidatorov avarii na ChAES. Radiatsionnaia biologiiia. Radioekologiiia] 5:501-507. (In Russian)
- 21 Serebrianyi AM, Antoshchina MM, Aleshchenko AV, Kudriashova OV, Nikonova MF, Riabchenko NI, Iarilin AA (2013) Cytogenetic and immunological parameters stimulated human peripheral blood lymphocytes are associated with cell proliferation rate. Radiation Biology. Radioecology [Tsitogeneticheskie i immunologicheskie pokazateli stimulirovannykh limfotsitov perifericheskoi krovi cheloveka sviazany so skorost'iu proliferatsii kletok. Radiatsionnaia biologiiia. Radioekologiiia] 6:549-555. (In Russian)
- 22 Osipov AN, Lizunova EIu, Vorob'eva NIu, Pelevina II (2009) Induction and repair of double-strand DNA breaks in human lymphocytes irradiated in a dose of adapting. Radiation Biology. Radioecology [Induktiia i reparatsiia dvunitevykh razryvov DNK v limfotsitakh krovi cheloveka, obluchennykh v adaptiruiushchei doze. Radiatsionnaia biologiiia. Radioekologiiia] 1:42-45. (In Russian)
- 23 Mikhailov BF, Mazurik VK, Ushenkova LN, Nadezhina NM, Galstian .A, Raeva NF (2006) The study of molecular manifestations of genomic instability in persons exposed to ionizing radiation at clinically relevant doses. Radiation Biology. Radioecology [Issledovanie molekuliarnykh proiavlenii nestabil'nosti genoma u lits, podvergavshikhsia vozdeistviu ioniziruiushchei radiatsii v klinicheski znachimykh dozakh. Radiatsionnaia biologiiia. Radioekologiiia] 3:322-336. (In Russian)
- 24 Akleev AV, Aleshchenko AV, Kudriashova OV, Semenova LP, Serebrianyi AM, Khudiakova OI, Pelevina II (2011) The adaptive response of blood lymphocytes as an indicator of the state of hematopoiesis in irradiated individuals. Radiation Biology. Radioecology [Адаптивный ответ лимфоцитов крови как индикатор состояния гемопоэза у облученных лиц. Radiatsionnaia biologiiia. Radioekologiiia] 6:645-650. (In Russian)
- 25 Khandogina EK, Mutovin GR, Zvereva SV, Antipov AV (1991) Adaptive response in irradiated human lymphocytes: radiobiological and genetic aspects, Mutat.Res., 251:181-186. DOI:10.1016/0027-5107(91)90073-W