

ОТДЕЛЕНИЕ РАДИАЦИОННОЙ И РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В 1998 г. основная деятельность ОРПИ была направлена на выполнение следующих задач:

- проведение радиационных исследований;
- проведение радиобиологических исследований;
- обеспечение радиационной безопасности.

Первые два направления работ осуществлялись в рамках темы первого приоритета Проблемно-тематического плана научно-исследовательских работ ОИЯИ. Основными задачами темы в 1998 г. были:

- разработка методов и средств радиационных измерений;
- разработка методов проведения радиобиологических экспериментов на пучках частиц и выполне-

ние радиобиологических экспериментов на базовых установках ОИЯИ;

- совершенствование методов расчета прохождения излучения через защиту и прогнозирования радиационной обстановки;
- изучение откликов радиационных детекторов;
- радиобиологические исследования закономерностей и механизмов мутагенного воздействия ионизирующего излучения с различными ЛПЭ на клетки про- и эукариотов;
- исследование биологических эффектов воздействия малых доз радиации на лимфоциты периферической крови человека и клетки растений;
- развитие методов мишенной терапии рака.

РАДИАЦИОННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Радиационные исследования были связаны с изучением детекторов нейтронов, спектрометрией нейтронов, физической поддержкой радиобиологических экспериментов на установках ОИЯИ, развитием методов расчета и прогнозирования радиационной обстановки. В соответствии с соглашением о сотрудничестве между ОРПИ и Лабораторией биофизики Национального управления по аэронавтике и космическим исследованиям США (NASA) летом 1998 г. было проведено *облучение биологических образцов протонами с энергией 1 ГэВ для исследования цитогенетических повреждений лимфоцитов крови человека и изучения онкогенных трансформаций клеток животных*. Создана система мониторинга и пучковой дозиметрии для физической и метрологической поддержки данных исследований. Часть облученных образцов направлена в NASA для хромосомного анализа с использованием FISH-метода и RBL-анализа трансформаций, другая часть образцов изучалась в ОРПИ.

Продолжены измерения с помощью *многоферного спектрометра спектров нейтронов из толстой мишени, облучаемой протонами с энергией 3,65 ГэВ*, для изучения выходов нейтронов в результате развития межъядерного каскада в мишени [1]. Спектры

нейтронов восстанавливались по показаниям спектрометра методом статистической регуляризации. Конечной целью данных исследований является оценка сечения трансмутации радиоактивных отходов.

Проведена метрологическая аттестация радонного детектора PRASSI для измерений концентраций радона в воздухе.

Продолжались исследования откликов детекторов на пучках протонов [2] и ядер ^{12}C .

Завершена вторая часть работ по исследованию и оптимизации параметров детекторов нейтронов для целей гарантий МАГАТЭ. В рамках данной работы были выполнены:

- сравнительные исследования характеристик коронного газоразрядного счетчика тепловых нейтронов СНМ-70 с целью изучения возможности его применения в системах радиационного мониторинга делящихся веществ;
- разработан, создан и испытан прототип канала регистрации нейтронов для целей непрерывного мониторинга;
- исследована возможность работы детектора нейтронов в составе канала регистрации нейтронов на длинный кабель без использования преусилителя;

- составлена методика подбора оптимальных параметров канала регистрации нейтронов с использованием метода спектрометрии аппаратных распределений импульсов.

РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Радиобиологические исследования проводились на лимфоцитах человека, клетках млекопитающих в культуре, гаплоидных и диплоидных дрожжах, бактериях и клетках растений.

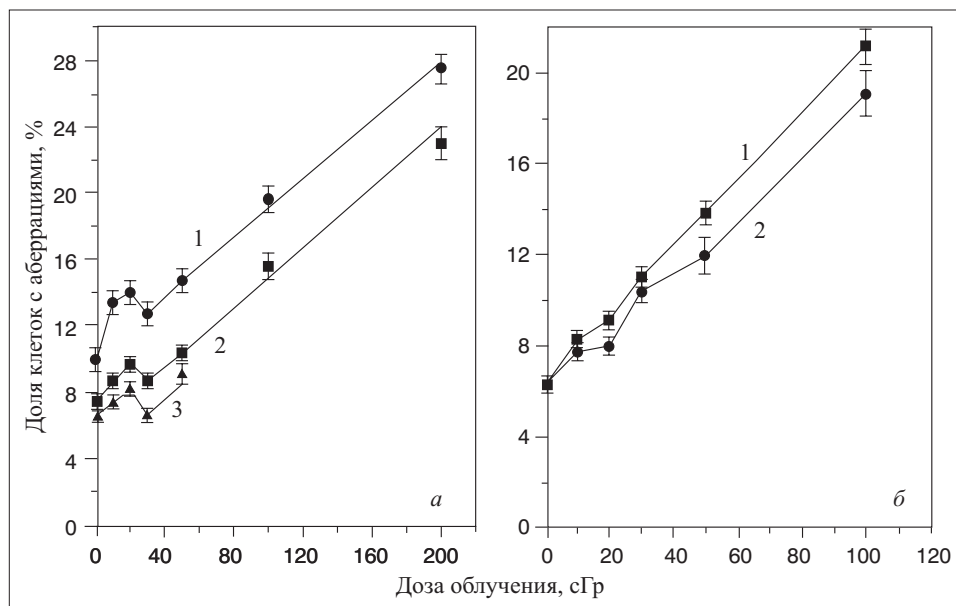
Было продолжено *изучение радиационно-индуцированных стабильных и нестабильных хромосомных aberrаций в лимфоцитах человека* [3]. Проведены эксперименты по облучению лимфоцитов человека протонами с энергией 1 ГэВ. Для окрашивания хромосом 1 и 2 на приготовленных цитогенетических препаратах FISH-методом были использованы биотинилированные и дигоксигенин-меченые хромосомные пробы, специфичные для изучаемых хромосом. Радиационно-индуцированные стабильные и нестабильные хромосомные aberrации анализировали FISH-методом и общепринятым метафазным методом. Полученные результаты показали, что частота стабильных хромосомных aberrаций, оцененных FISH-методом, нелинейно увеличивалась с дозой облучения и при дозе 7 Гр достигала 34 транслокаций на 100 клеток. При этом по своему уровню они превышали выход всех видов нестабильных хромосомных aberrаций, оцененных этим методом. Анализ хромосомных aberrаций общепринятым метафазным методом выявил наибольшую частоту дицентрических хромосом, уровень которых нелинейно увеличивался с дозой до 54,5 aberrаций на 100 клеток при дозе 7 Гр. Полученные данные показали тенденцию к сближению эффективностей протонов с энергией 1 ГэВ и γ -излучения.

Продолжено *изучение генетических эффектов влияния малых доз облучения на клетки млекопитаю-*

Было выполнено проектирование систем радиационной безопасности и осуществлено прогнозирование радиационной обстановки на комплексе словацкого циклотрона CyLab.

щих [4,5]. На клетках меланомы человека линии BRO, так же как и на клетках китайского хомячка, показано наличие гиперчувствительности клеток при дозах облучения ниже 10 сГр и индуцированной резистентности при облучении дозами выше 20 сГр (см. рисунок). Проводится проверка гипотезы об общности механизмов, лежащих в основе этого феномена, и адаптивного ответа клеток. Установлено, что предварительное облучение клеток дозами $1 \div 20$ сГр снижает эффективность последующего воздействия более высокими дозами в 1,5–2 раза. Наибольшая величина адаптивного ответа регистрируется при облучении клеток адаптирующими дозами в G1-фазе и тестирующими дозами в S-фазе клеточного цикла.

Продолжены *исследования по использованию комплекса ^{211}At — метиленовый синий (МС) для мишенной радиотерапии пигментной меланомы*. Этот вид терапии основан на высокой связывающей способности МС с меланином опухолевых клеток и направлен на преодоление метастатического процесса, характерного для данного вида опухоли. Оценивали степень повреждения нормальных клеток и клеток меланомы при применении астата-211 в ионной форме и комплекса ^{211}At – МС. По выживаемости клеток показана одинаковая эффективность воздействия астата-211 в ионной форме на клетки меланомы человека линии BRO и нормальные клетки китайского хомячка линии V79. В то же время эффективность действия ^{211}At – МС на клетки меланомы на порядок выше, чем на нормальные клетки. Это означает, что ^{211}At – МС селективно аккумулируется в меланинсодержащих клетках и таким образом может быть ис-



Зависимость выхода клеток китайского хомячка с хромосомными aberrациями от дозы облучения при времени фиксации: а) 10 часов после облучения (три эксперимента); б) 3 часа после облучения (два эксперимента)

пользован в мишенной терапии диссеминированной меланомы при незначительном воздействии на нормальные ткани.

Клетки любого организма подвергаются воздействию широкого спектра ДНК-повреждающих агентов. При повреждении ДНК запускается адаптивный ответ, включающий остановку клеточного цикла. Остановка клеточного цикла обеспечивает время для репарации повреждений, минимизирует потенциальные летальные или мутагенные последствия и осуществляется механизмом негативного контроля, названным *checkpoint*. Точки проверки имеются на различных стадиях клеточного цикла. Нарушение этого механизма приводит к снижению генетической стабильности. У человека мутации в генах, координирующих повреждение клеточного цикла, такие как p53 и ATM, повышают вероятность канцерогенеза. У больных атаксией телангиэктазией клетки чувствительны к γ -лучам и дефектны по ингибированию репликации и остановкам в G1 и G2 при облучении. Ген p53 — супрессор опухолеобразования — в ответ на повреждения ДНК активирует транскрипцию нескольких генов и запускает остановку клеточного цикла в G1 и G2. Высокий консерватизм механизмов репликации ДНК и регуляции клеточного цикла у эукариотов делают дрожжи перспективной моделью для изучения этих механизмов.

У дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* идентифицировано несколько генов, контролирующих процесс checkpoint-регуляции (например, ген MEC1, гомологичный гену ATM). Однако взаимодействия между этими генами, а также их влияние на радиочувствительность полностью пока не изучены. Нами идентифицированы новые три гена [6,7]. Анализ взаимодействия между генами показал, что гены checkpoint-регуляции не относятся к трем известным эпистатическим группам генов радиочувствительности, а образуют две дополнительные эпистатические группы, что свидетельствует о существовании независимых путей, определяющих радиочувствительность к повреждающему действию радиации.

Продолжено изучение закономерностей мутационного процесса, обусловленного действием ионизирующей радиации у дрожжей [8]. Из широкого спектра повреждений вычленили один класс — точечные мутации. Используя генетическую систему, позволяющую тестировать все типы транзиций и трансверсий, показали линейно-квадратичный характер зависимости как у диплоидных, так и у гаплоидных клеток дрожжей.

Было продолжено изучение спонтанных и индуцированных делеционных мутаций в бактериальных клетках *Escherichia coli*. Для этих целей использована специальная тест-система, основанная на определении мутаций в фланкирующих генах: *tonB* (устойчивость клеток к инфицированию фагом *p80vir* и действию колицинов) и *trp*⁻ (ауксотрофность по триптофану). Изучена динамика фенотипического проявления мутаций. Измерены частоты возникновения спонтанных и индуцированных делеционных мутаций (*trp*⁻ — *tonB*⁻).

Проведены заключительные эксперименты по *SOS-Lux-тесту*, в ходе которых изучено влияние на SOS-индукцию в клетках *Escherichia coli* таких факторов, как разные виды радиации, репарационный генотип и условия культивирования. Установлено, что молекулярные события, приводящие к SOS-индукции после воздействия УФ-излучения, при больших и малых дозах могут быть различными. В частности, SOS-индуцированные повреждения, образующиеся в ДНК при больших дозах, не могут быть удалены конситутивными системами репарации, что подтверждается экспериментами по фотореактивации и выдерживанию суспензий УФ-облученных клеток в голодной среде. Показано, что SOS-индукция прямо зависит от репарационного генотипа клеток. Важно отметить, что SOS-ответ клеток, облученных ионизирующей радиацией, зависит от ЛПЭ, причем максимум соответствует ЛПЭ = 20 кэВ/мкм (ионы гелия). При этом влияние репарационного генотипа сходно с установленным при воздействии УФ-излучения.

Была продолжена работа по математическому моделированию SOS-регуляции в клетках *E. coli*. Хромосомные повреждения или вмешательства в репликацию ДНК, вызванные УФ, ионизирующей радиацией или некоторыми химическими агентами, приводят к индукции установленных физиологических реакций, получивших название коллективного SOS-ответа. Регуляция индукции SOS-ответа, запускаемого индуцирующим сигналом, возникающим после повреждающего воздействия, представляется как центральное событие взаимодействия двух регуляторных белков: LexA (негативный регулятор) и RecA (позитивный регулятор). Основываясь на нашей модели регуляции SOS-ответа, мы изучили индукцию и выключение SOS-ответа, моделируя изменения клеточного уровня двух основных SOS-регуляторов, каковыми являются белки RecA и LexA. Анализ динамики белков RecA и LexA в штаммах дикого типа и мутантах, дефектных по эксцизионной репарации нуклеотидов (в основном клеточные системы для удаления повреждений ДНК, индуцированных УФ-излучением), помог выявить функциональные роли двух регуляторов в индукции SOS-ответа. Таким образом, мы получили возможность рассчитать кривые доза-эффект для белков SOS-регуляторов и провести временной анализ SOS-регуляции, который, как оказалось, должен быть организован как каскад информации, протекающий по SOS-регуляторной цепи.

Исследования действия малых доз и низких мощностей гамма-излучения были проведены на клетках эукариот: дрожжей и высших растений. Ранее на дрожжах было показано, что адаптивный ответ клеток, т.е. радиочувствительность к повторному острому облучению, возрастает после хронического облучения клеток и уменьшается после окончания облучения через 16–22 часа культивирования. Проведены исследования увеличения радиочувствительности. Анализ последних опытов позволил заключить, что малые дозы радиации не убивают, а повреждают клетки. Поврежденные клетки характеризуются меньшей скоростью пролиферации. По итогам данных исследований была защищена кандидатская дис-

сертация «Реакция популяций дрожжевых клеток на пролонгированное гамма-облучение».

Исследования *воздействия гамма-лучей малой мощности на клетки высших растений* имели задачей связать аномальный митоз клеток и их адаптивный ответ. Для этих исследований были использованы семена гороха с низким и высоким уровнями естественного мутирования. Опыты на растениях показали [9], что облучение при низких мощностях доз, так же как и при высоких, приводит к увеличению количества «отбракованных» семян и задержке первого митоза. Отмечается уменьшение выхода хромосомных aberrаций и увеличение митотической активности. В этом диапазоне ($0 \div 2$ сГр/ч) наблюдается исчезновение адаптивного ответа и даже повышение радиочувствительности клеток. Это свидетельствует о том, что в области радиационного гормезиса адаптивно-компенсаторные функции клетки исчезают либо подавляются. При больших мощностях доз (~ 20 сГр/ч) появляется адаптивная реакция клетки.

На основе разработанной и обоснованной модели двух защитных реакций (ДЗР) выполнен *анализ результатов эпидемиологических наблюдений за когортами облученных людей*. Анализ [10] показал возможность больших различий в оценках последствий

облучения одними и теми же дозами, так как зависимость доза–эффект определяется радиочувствительностью индивидуума или когорты (популяции), резервом их защитной реакции, которая, в свою очередь, определяется средой обитания и условиями облучения. Ярким примером сказанного являются прямо противоположные эффекты облучения радона в зависимости от условий облучения: наибольший ущерб — для горняков с сочетанием у них многих неблагоприятных факторов и благоприятные последствия облучения — для проживающих в домах (США), а также при принятии радоновых ванн для некоторых категорий больных. Анализ результатов наблюдений стохастических эффектов на клеточном уровне на основе модели ДЗР позволил описать в зависимости доза–эффект в области малых доз некоторые закономерности: возрастание, спад и новый подъем выхода aberrаций независимо от вида биологического объекта (корневой меристемы зерен ячменя, линии клеток HT29 опухоли человека и клеток китайского хомячка, облученных фотонами) в зависимости от дозы облучения в диапазоне $10 \div 50$ сГр. Это, возможно, является следствием защитной адаптивной реакции, которая инициируется при дозе около 20 сГр.

РАДИАЦИОННАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

Радиационный контроль за облучением персонала ядерно-физических установок ОИЯИ осуществлялся в 1998 г. с помощью автоматизированных систем радиационного контроля (АСРК) и переносными приборами. Были продолжены исследования полей излучения в помещениях вокруг циклотрона У-400М. В ЛЯР проведены работы по реконструкции спецвентиляции РХЛ. Проведена модернизация каналов радиационного контроля нейтронов на У-400.

Регулярный мониторинг окружающей среды по образцам почвы, растений (трава), воды из водоемов в окрестностях Дубны, водопроводной воды и сбросов воды предприятиями позволяет утверждать, что радиоактивность окружающей среды вокруг ОИЯИ остается постоянной в течение длительного времени и обусловлена лишь естественной радиоактивностью

и продуктами глобальных выпадений. Какой-либо вклад в 1998 г. в радиоактивность окружающей среды от ядерно-физических установок ОИЯИ не обнаружен.

В 1998 г. на индивидуальном дозиметрическом контроле в ОИЯИ состояло 1898 человек, включая 72 прикомандированных специалиста. По сравнению с 1997 г. число лиц, состоящих на контроле, снизилось на 70 человек. Годовые индивидуальные дозы персонала не превысили 15 мЗв/год. Наибольшее значение средней индивидуальной годовой дозы персонала лабораторий ОИЯИ наблюдается, как и прежде, в ЛНФ и ЛЯР — 1,4 мЗв/год. Превышения контрольных уровней и пределов доз в 1998 г. в лабораториях также не были зарегистрированы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wan J.S. et al. — *Kerntechnik*, 1998, v.63, № 4.
2. Spurny F., Vambléviski V., Vlcek B. — *Report NPI 455/98, Prague*, 1998.
3. Govorun R.D. et al. — *JINR Preprint E19-98-31, Dubna*, 1998.
4. Nasonova E., Ritter S., Phomenkova T., Kraft G. — *Advances in Space Research*, 1998, v.22, № 4.
5. Шмакова Н.Л., Фадеева Т.А., Красавин Е.А. — *Радиобиология*, 1998, т.38, № 6.
6. Колтовая Н.А. и др. — *Доклады РАН*, 1998, т.360, № 3.
7. Колтовая Н.А. и др. — *Генетика*, 1998, т.34, № 5.
8. Любимова К.А., Аникин С.А., Колтовая Н.А., Красавин Е.А. — *Генетика*, 1998, т.34, № 9.
9. Корогодина В.Л. и др. — *Радиационная биология. Радиоэкология*, 1998, № 5.
10. Комочков М.М. — *Сообщение ОИЯИ P19-98-118, Дубна*, 1998.