

ОРРИ

В 1999 г. деятельность ОРРИ была сосредоточена на следующих основных направлениях:

- нейтронная спектрометрия и радиационный мониторинг;
- физическая поддержка радиобиологических экспериментов;
- теоретическое моделирование взаимодействия ионизирующего излучения с веществом, в том числе взаимодействие с биологическими структурами и расчеты защиты;

- исследования закономерностей и механизмов индукции точковых и структурных мутаций в клетках про- и эукариот при действии излучений с различной линейной передачей энергии (ЛПЭ);
- проблемы малых доз облучения при различных ЛПЭ и клеточное восстановление;
- исследования терапевтической эффективности комплекса ^{211}At — метиленовый синий (МС) для лечения меланомы.

РАДИАЦИОННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

В рамках техзадания по созданию циклотронного комплекса CyLab (Словакия) была проведена комплексная проработка системы радиационной безопасности и мониторинга, включающая в себя все аспекты дозиметрического контроля, регулирования и радиационной защиты персонала на циклотроне, радиохимическом производстве, различных медицинских технологиях и в окружающей среде. Были смоделированы основные источники внешнего и внутреннего облучения, определены критерии радиационной защиты в соответствии с международными рекомендациями, рассмотрены задачи радиационного мониторинга, захоронения отходов, выбросов от работающего ускорителя, возможных аварийных ситуаций и т.д.

Значительное внимание уделялось развитию методов расчета биологических защит, расчету откликов радиационных детекторов и разработке различных дозиметрических приложений с использованием методов Монте-Карло. В частности, были

проведены расчеты глубинных распределений поглощенной дозы электронов ^{166}Ho в каждой ткани. Данная работа выполнялась в рамках сотрудничества с ИЯФ (Чешская Республика) и связана с радионуклидной терапией рака кожи. Для условий реальной геометрии были выполнены расчеты спектров в опорных полях нейтронов на основе ^{252}Cf в полиэтиленовых замедлителях. Были продолжены работы по физической поддержке радиобиологических экспериментов [1,2].

Совместно с ЛВЭ продолжены измерения спектров нейтронов, генерируемых протонами с энергией 1 ГэВ в U + Pb + CH₂-сборке [3,4]. Цель данных исследований — оценка сечения трансмутации радиоактивных отходов. Для измерения спектров нейтронов в широком диапазоне энергий использовался многосферный спектрометр и программа восстановления спектров методом статистической регуляризации. Пространственное распределение

флюенсов нейтронов вокруг мишеней измерялось с помощью активационных детекторов. Были обработаны данные предыдущих экспериментов на протонах с энергиями 1 и 1,5 ГэВ по двойным дифференциальным по углу и энергии распределениям нейтронов и оценке полного выхода нейтронов (различных энергетических групп) из сборки.

Завершены измерения концентраций радона в воздухе помещений, воде и окружающей среде на территории ОИЯИ [5]. Выполнялись исследования концентраций радионуклидов в почве и многолетних

мхах из района расположения Балаковской АЭС и окрестностей Еревана.

Продолжались исследования функций отклика радиационных детекторов [6]. В опорных полях нейтронов изучались характеристики индивидуальных дозиметров, используемых в ОИЯИ и Чешской Республике, термомлюминесцентных и трековых детекторов. Обработаны результаты измерений распределений вторичных ЛПЭ-частиц в трековом детекторе на основе CR-39, облученном пучком протонов с энергией 1 ГэВ [7].

РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведен анализ данных по выходу стабильных и нестабильных аббераций хромосом в лимфоцитах крови человека, индуцированных слабо- и плотно-ионизирующими излучениями (γ -кванты, протоны с энергией 1 ГэВ и ЛПЭ $\sim 0,218$ кэВ/мкм, ионы азота ^{14}N с ЛПЭ ~ 77 кэВ/мкм) [8,9], и рассмотрены возможные математические подходы для сопоставления данных, полученных FISH и стандартным метафазным методами. Предложены математические формулы для пересчета частоты стабильных аббераций (транслокации) на весь геном и частот некоторых нестабильных аббераций (дицентрики и фрагменты), выявляемых FISH-методом в хромосомах -1 и -2 лимфоцитов человека. Сопоставление полученных расчетных данных и результатов метафазного анализа, выявляющего только нестабильные абберации хромосом во всем геноме, свидетельствует прежде всего о высокой частоте индукции транслокаций хромосом (даже превышающей выход дицентриков во всем геноме: при воздействии протонами — в среднем в 1,8 раза, γ -квантами — в 2 раза и ионами азота — в 2,3 раза). Еще более высоким (особенно при облучении ионами азота) оказалось превышение расчетных величин для фрагментов хромосом: при воздействии γ -квантами и протонами — почти в 4 раза, а ионами азота — примерно в 20 раз. В отличие от них рассчитанные частоты дицентриков либо были близки данным метафазного анализа при воздействии ускоренными частицами, либо вдвое меньшими — при γ -облучении.

Полученные данные могут служить подтверждением появившихся предположений о неодинаковой радиочувствительности разных хромосом человека. Они свидетельствуют о более высокой частоте повреждения хромосом -1 и -2 генома человека.

Было продолжено изучение мутагенного действия ионизирующих излучений на клетки млекопитающих. На синхрофазотроне ЛВЭ проведено облучение клеток китайского хомячка (линия V-79) протонами с энергией 1 ГэВ в дозах 1, 1,5 и 2,5 Гр. Были выявлены и выделены из культуры облученных клеток HPRT-мутантные субклоны и проведен их цитогенетический анализ. Результаты свидетельствуют о том, что облучение клеток млекопитающих γ -квантами и высокоэнергетичными протонами может индуцировать также появление устойчивых по цитогенетическим показателям форм радиационно-индуцированных мутантов.

Одним из важнейших аспектов биологического действия малых доз ионизирующих излучений является вопрос о возможности экстраполяции эффектов, вызываемых высокими дозами, на облучение в области низких доз, а также проблема индукции адаптивного ответа, т.е. повышение радиорезистентности клеток после облучения в малых дозах к последующему облучению в большой дозе. На клетках китайского хомячка и меланомы человека в культуре с использованием цитогенетических критериев изучена зависимость доза–эффект в диапазоне $0,1 \div 2$ Гр однократного γ -облучения. Для обеих линий клеток кривая доза–эффект имеет сходный характер. Выявлена нелинейная зависимость количества клеток с хромосомными абберациями от дозы. При дозах ниже 10 и 20 сГр для клеток меланомы и китайского хомячка соответственно клеткам свойственна максимальная радиочувствительность, сменяющаяся резким повышением радиорезистентности, при котором в определенном диапазоне имеет место обратная зависимость величины эффекта от дозы. Предполагается [10], что этот феномен обусловлен индуцибельной

радиорезистентностью вследствие включения репарационных механизмов при определенных уровнях повреждения, причем у клеток меланомы индуцибельная репарация работает более эффективно и включается при меньших дозах, чем у клеток китайского хомячка. На основании полученных результатов сделано заключение о том, что в основе нарушения линейности кривой доза–эффект и индукции адаптивного ответа лежат одни и те же процессы индуцибельной репарации, аналогичные по своим механизмам и различающиеся у клеток разных типов.

Продолжены работы по изучению у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* генетического контроля checkpoint-регуляции — механизма, формирующего реакцию клетки на повреждающее действие ионизирующей радиации [11]. У дрожжей идентифицировано несколько генов, контролирующих этот механизм. Изучали взаимодействие между известными генами (RAD9, RAD17, RAD24, RAD53), контролирующими остановку клеточного цикла в точках проверки, а также между ними и генами SRM, мутации в которых повышают радиочувствительность клеток и снижают стабильность генетических структур. Для этого конструировали штаммы, несущие двойные мутации, и у двойных мутантов анализировали чувствительность к γ -излучению. Показано участие генов SRM5, SRM8 и SRM12 в checkpoint-контроле. Особенно важное значение имеет прямое доказательство участия протеинкиназы p34, кодируемой геном SRM5 (CDC28), играющей центральную роль в регуляции клеточного цикла и являющейся, по-видимому, мишенью передачи сигнала о повреждении ДНК-машинерии, обеспечивающей прохождение клеточного цикла.

Продолжены работы по изучению индукции точковых мутаций у дрожжей ионизирующей радиацией [12]. Завершены работы по изучению индукции замен пар оснований у гаплоидных клеток дрожжей. Показано, что γ -излучение эффективно индуцирует все 6 типов замен пар оснований. Зависимость частоты мутаций от дозы облучения описывается линейной функцией в отличие от линейно-квадратичной для диплоидных штаммов дрожжей. Спектр замен пар оснований совпадает у гаплоидных и диплоидных штаммов дрожжей.

Проводились работы по изучению индукции точковых мутаций под действием ускоренных ионов. Облучение ионами ^4He (ЛПЭ = 20 кэВ/мкм) индуцировало мутации с ОБЭ около 2.

Начаты работы по изучению индукции мутаций типа сдвига рамки считывания. Тестерная система, основанная на тестировании реверсий вставки 4 нуклеотидов в ген LYS2 и 1 нуклеотида в ген NOM3, позволяет тестировать выпадение 1 нуклеотида (микроделеция). Отрабатывались условия детектирования реверсных мутаций.

Продолжена работа по изучению закономерностей образования спонтанных и индуцированных делеционных мутаций в бактериальных клетках *Escherichia coli* [13]. Используемая тест-система на основе хромосомального гена *tonB*, расположенного на расстоянии 4,6 kb от *trp*-оперона, позволяет учитывать *tonB-trp*-делеционные мутации, определяемые по устойчивости к колицину B, фагу T1 и по наличию ауксотрофности по триптофану.

Получена дозовая зависимость частоты образования *tonB-trp*-делеционных мутаций при γ -облучении. Проведена серия экспериментов по отработке методики для изучения индукции делеционных мутаций тяжелыми ионами. Ведется селекция новых *met*-мутантных клонов для упрощения методики отбора делеционных мутантов. Одновременно получена дозовая зависимость для *tonB*-мутантов, отбираемых по устойчивости к колицину B и бактериофагу T1. Предполагалось, что большинство этих мутаций представляют собой короткие делеции, локализованные в гене *tonB*. В подтверждение данной гипотезы начата проверка этих мутантов на способность к реверсии.

Завершены работы по изучению закономерностей SOS-ответа в клетках *E. coli* при действии ультрафиолетового света [14]. В частности, исследовано влияние видимого света (фотореактивации) на характер кинетических и дозовых кривых SOS-индукции в клетках *E. coli* (*uvrA*) [15]. Анализ этих, а также ранее полученных данных, касающихся УФ-индуцированного SOS-ответа, позволил заключить, что различные молекулярные события лежат в основе индукции SOS-системы в области высоких и низких доз УФ. В области доз $0 \div 2$ Дж/м² SOS-сигнал вероятнее всего обусловлен односторонними пробелами, генерируемыми в процессе репликации поврежденной ДНК, а в области доз $2 \div 10$ Дж/м² SOS-индуцирующим событием является остановка репликации ДНК.

Завершены работы по исследованию влияния *итиС*-мутации на SOS-ответ, индуцируемый в клетках *E. coli* УФ- и γ -лучами [16]. Показано, что в обоих случаях наличие данной мутации приводит примерно к пятикратному увеличению уровня SOS-индукции. Эксперименты с выдерживанием облученных клеток в буфере позволили заключить, что это связано с бо-

лее эффективной эксцизионной репарацией повреждений в клетках с нормальным UmuC-белком, что может быть следствием UmuCD-зависимого ингибирования репликации ДНК. Были продолжены исследования SOS-ответа в клетках *E. coli* при действии заряженных ионов. В частности, получены кинетические кривые SOS-индукции при облучении клеток дикого типа различными дозами γ -лучей и ионов ^4He с ЛПЭ = 20 кэВ/мкм.

Завершена работа по *математическому моделированию генетической регуляторной системы SOS-ответа у бактерий E. coli*. В результате разработана модель и получены соответствующие дифференциальные уравнения, описывающие динамику генетической регуляции и индуцирующего сигнала для регуляторной системы SOS-ответа после действия УФ. Рассчитаны и проанализированы динамические кривые регуляторных компонент SOS-ответа после УФ-облучения, а также дозовые зависимости максимальных концентраций продуктов генов *recA* и *sulA*.

Были начаты исследования совместно с ЛЯР ОИЯИ, Институтом биологической химфизики РАН, Саратовским государственным университетом и Государственным комитетом по охране окружающей среды Саратовской области последствий химических загрязнений ионизирующих излучений низких мощностей в районе действия Балаковской АЭС [17]. Исследования проводили на семенах высших растений — подорожника *Plantago major*. Данные анализировали с учетом результатов определения радионуклидных и химических загрязнений, а также моделирования газового потока выбросов инертных радиоактивных газов АЭС. Исследования показали, что задержка прорастания и число непроросших семян в популяциях коррелируют с выходом хромосомных нарушений в первом митозе меристематических клеток в случае большого количества хромосомных нарушений как в случае действия радиации, так и химических агентов. В этих популяциях уровень хромосомных aberrаций в 3–4 раза превышает уровень в контроле. Анализ выхода хромосомных нарушений и количества пролиферирующих клеток в апексе в первом митозе показал, что воздействие ионизирующей радиацией приводит к классическим зависимостям этих показателей от сроков фиксации, а совместное действие с химическими агентами задерживает и останавливает деление клеток. Уменьшение средних показателей по количеству делящихся клеток в апексе наблюдалось в

популяциях, подверженных действию радиоактивных выбросов АЭС и химических агентов. Эти процессы нарушают нормальное развитие корня растения, наблюдавшееся в ряде популяций. Исследования антиоксидантного статуса показали, что он снижен в 2–3 раза в популяциях, расположенных по преимущественному направлению ветра от АЭС. Последующие исследования будут направлены на изучение изменений специфических показателей, ответственных за влияние малых доз ионизирующей радиации, химических агентов и их совместного действия.

Выполнен анализ результатов наблюдений *взаимосвязи доза–эффект на клеточном и организменном уровнях* с целью уточнения коэффициентов риска при малых дозах [18]. Результаты наблюдения представлены двумя противоположными группами зависимостей эффекта от дозы: надлинейной и подлинейной. Оба типа зависимостей описываются решениями уравнения предполагаемого единого защитного механизма из двух составляющих: врожденной (конститутивной) и адаптивной (индуцибельной). Анализ последних данных по надлинейным зависимостям показывает значительную недооценку радиационного риска всех видов рака, кроме лейкемии, для некоторых критических групп из популяции при малых дозах по сравнению с рекомендациями МКРЗ. С ростом дозы наблюдается снижение величины эффекта на единицу дозы, что, возможно, связано с включением активности адаптивного защитного механизма при превышении некоторых пороговых значений дозы.

Завершена серия экспериментов по количественной оценке степени повреждения нормальных клеток китайского хомячка и клеток меланомы человека *in vitro* после воздействия ^{211}At в ионной форме и метиленовым синим (МС), меченым ^{211}At [19]. Результаты экспериментов подтвердили предварительные данные о том, что эффективность воздействия ^{211}At — МС на клетки меланомы на порядок выше, чем на нормальные непигментированные клетки, в то время как повреждающее действие ^{211}At в ионной форме на нормальные и опухолевые клетки не различается. Это означает, что ^{211}At — метиленовый синий селективно накапливается в пигментированных опухолевых клетках и это соединение может быть эффективно использовано в целях радиотерапии диссеминированной меланомы при минимальном повреждении нормальных тканей.

РАДИАЦИОННАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ

Радиационный контроль за облучением персонала ядерно-физических установок ОИЯИ осуществлялся в 1999 г. с помощью автоматизированных систем радиационного контроля (АСРК) и переносными приборами.

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 1999 г. в радиоактивность окружающей среды

от ядерно-физических установок ОИЯИ не обнаружен.

В 1999 г. на индивидуальном дозиметрическом контроле в ОИЯИ состояло 1816 человек, включая 77 прикомандированных специалистов. По сравнению с 1998 г. число лиц, состоящих на контроле, снизилось на 72 человека. Годовые индивидуальные дозы персонала не превысили 21 мЗв/год. Наибольшее значение средней индивидуальной годовой дозы персонала лабораторий ОИЯИ наблюдается в ЛНФ и ОРРИ — 2 мЗв/год. Превышения контрольных уровней и пределов доз в 1999 г. в лабораториях также не были зарегистрированы.

ОБРАЗОВАНИЕ

Второй цикл 9-недельных региональных образовательных курсов МАГАТЭ по радиационной безопасности был организован осенью 1999 г. на базе ОРРИ и УНЦ. Курсы были открыты для 25 молодых специалистов из стран-участниц МАГАТЭ в регионе Восточной Европы и Западной Азии. В процессе обучения им было представлено 125 лекций, проведено 17 лабораторных работ и организовано 10 научных

визитов. По окончании курсов слушателям были вручены образовательные сертификаты МАГАТЭ. Учитывая высокий организационный и научно-практический уровень курсов и накопленный в ОИЯИ опыт, со стороны МАГАТЭ предложено продолжить эффективное сотрудничество с ОИЯИ в этом направлении на постоянной основе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Спурны Ф., Бамблевский В.П. — *Radiation Measurements*, 1999, т.31, № 1–6, с.413.
2. Timoshenko G.N., Bamblevski V.P., Krylov A.R. — *JINR Preprint E16-99-47, Dubna, 1999.*
3. Брандт Р. и др. — *Radiation Measurements*, 1999, т.31, № 1–6, с.537.
4. Брандт Р. и др. — *Radiation Measurements*, 1999, т.31, № 1–6, с.497.
5. Тимошенко Г.Н., Мерзлякова Н.Н. — *Сообщение ОИЯИ P16-99-328, Дубна, 1999.*
6. Головченко А.Н. и др. — *NIMB*, 1999, v.159, с.233.
7. Spurny F., Vlycek V., Bamblevski V.P., Timoshenko G.N. — *JINR Preprint E16-99-158, Dubna, 1999.*
8. Govorun R.D. et. al. — In: «*Fundamentals for the Assessment of Risks from Environmental Radiation*», NATO Science Series, 2. Environmental Security, v.55, Kluwer Academic Publishers. Dordrecht – Boston – London, 1999, p.249.
9. Lukasova E. et. al. — In: «*Fundamentals for the Assessment of Risks from Environmental Radiation*», NATO Science Series, 2. Environmental Security, v.55, Kluwer Academic Publishers. Dordrecht – Boston – London, 1999, p.195.
10. Schmakova N.L. et.al. — *Nucleonica*, 1999, v.44, No. 4 (in press).
11. Koltovaya N.A. et. al. — *Current Genetics*, 1999, v.35(3–4), p.336.

12. Зюзиков Н.А. и др. — Радиационная биология. Радиоэкология. 1999, № 6, т.39, с.628.
13. Булах А.П., Борейко А.В., Красавин Е.А. — В сб.: Труды III Научной конференции молодых ученых и специалистов ОИЯИ, Дубна, 13–18 февраля 1999, с.181.
14. Aksenov S.V. — JINR Preprint E19-99-74, Dubna, 1999.
15. Комова О.В. и др. — Препринт ОИЯИ P19-99-40, Дубна, 1999.
16. Комова О.В. и др. — Радиационная биология. Радиоэкология (в печати).
17. Гришина И.В. и др. — В сб.: Труды III Научной конференции молодых ученых и специалистов ОИЯИ. Дубна, 15–18 февраля 1999, с.182.
18. Komochkov M.M. — JINR Communication E19-99-295, Dubna, 1999.
19. Schmakova N.L. et. al. — Nuclear Medicine, 1999, v.20(5), p.466.