

Читать
онлайн
Read
online

Охрименко С.Е.^{1,2}, Ингель Ф.И.³, Рыжкин С.А.^{1,4}, Ахальцева Л.В.³, Юрцева Н.А.³,
Кривцова Е.К.³, Никитина Т.А.³, Коняшкина М.А.³, Семенова М.П.³, Блохин И.А.⁵,
Гомболевский В.А.^{5,6}

Эффекты нестабильности генома при облучении на разных протоколах КТ-сканирования. Результаты пилотного когортного исследования *ex vivo*

¹ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 125993, Москва, Россия;

²ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр
имени А.И. Бурназяна» ФМБА России, 123098, Москва, Россия;

³ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью»
Федерального медико-биологического агентства, 119121, Москва, Россия;

⁴ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, 420012, Казань, Россия;

⁵ГБУЗ «Научно-практический клинический центр диагностики и телемедицинских технологий
Департамента здравоохранения города Москвы», 127051, Москва, Россия;

⁶АНО «Институт искусственного интеллекта» (AIRI), 121165, Москва, Россия

Введение. Медицинское облучение является одним из ведущих источников облучения населения в мире. В последние десятилетия общее количество рентгеновских диагностических процедур значительно увеличилось, а с ростом объёма компьютерной томографии (КТ) связано и существенное повышение общей кумулятивной дозы облучения.

Цель работы – сравнение генотоксических эффектов облучения лимфоцитов крови человека с использованием различных протоколов КТ.

Материалы и методы. Среди пациентов разного пола и возраста, обратившихся за проведением профилактического обследования, случайным образом отобраны девять практически здоровых добровольцев (доноров), подписавших информированное согласие, для участия в эксперименте *ex vivo*. Четыре пробы венозной крови от каждого донора облучали на различных протоколах КТ (0,82–11,8 мЗв) в антропометрическом фантоме грудной клетки человека. Аликваты каждой пробы культивировали в условиях блока цитокинеза, фиксировали и анализировали по протоколу цитомного анализа в микроядерном тесте.

Результаты. При облучении проб крови в режиме ультра-НДКТ (0,82 мЗв) обнаружен пик пролиферации ускоренно делящихся клеток и частот генетических повреждений в них, а также продемонстрирована высокая вероятность образования и закрепления генетических повреждений в поколениях делящихся клеток. Это указывает на повышенную генотоксичность и, вероятнее всего, на иммунотропность исследуемого режима облучения.

Ограничением исследования является недопустимость вовлечения в эксперимент или использование биоматериалов человека без получения его согласия, а также недопустимость причинения в процессе эксперимента физического вреда или вреда чести и достоинству человека.

Заключение. При выборе режимов КТ необходимо учитывать не только уровни эффективных доз, но и возможность развития эффектов нестабильности генома. Однако такой подход требует дополнительных генотоксических исследований протоколов КТ в диапазоне от < 1 до 100 мЗв.

Ключевые слова: КТ; низкодозовый протокол; эффективная доза; культура цельной крови человека; цитокинетический блок; эффекты нестабильности генома в микроядерном тесте *ex vivo*

Соблюдение этических стандартов. Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта», принятой на 18-й Генеральной Ассамблее ВМА (Хельсинки, Финляндия), с изменениями и дополнениями, включая принятые 64-й Генеральной Ассамблеей ВМА (Форталеза, Бразилия) в октябре 2013 г. Все доноры подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Для цитирования: Охрименко С.Е., Ингель Ф.И., Рыжкин С.А., Ахальцева Л.В., Юрцева Н.А., Кривцова Е.К., Никитина Т.А., Коняшкина М.А., Семенова М.П., Блохин И.А., Гомболевский В.А. Эффекты нестабильности генома при облучении на разных протоколах КТ-сканирования. Результаты пилотного когортного исследования *ex vivo*. *Гигиена и санитария*. 2023; 102(10): 1112–1118. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-10-1112-1118> <https://elibrary.ru/npwfv>

Для корреспонденции: Охрименко Сергей Евгеньевич, канд. мед. наук, докторант ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, 123098, Москва; доцент каф. радиационной гигиены ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, 125993, Москва. E-mail: ooniii@mail.ru

Участие авторов: Охрименко С.Е., Ингель Ф.И. – концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание текста, редактирование; Ахальцева Л.В., Юрцева Н.А., Кривцова Е.К., Никитина Т.А., Коняшкина М.А. – сбор и обработка материала; Рыжкин С.А. – концепция и дизайн исследования, редактирование; Семенова М.П. – редактирование; Блохин И.А. – написание текста; Гомболевский В.А. – концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание текста. Все соавторы – утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Работа подготовлена в рамках научно-практического проекта в сфере медицины (№ ЕГИСУ: 123031500005-2) «Научное обоснование методов лучевой диагностики опухолевых заболеваний с использованием радиомического анализа».

Поступила: 08.08.2023 / Принята к печати: 26.09.2023 / Опубликовано: 20.11.2023

Sergey E. Okhrimenko^{1,2}, Faina I. Ingel³, Sergey A. Ryzhkin^{1,4}, Lyudmila V. Akhaltseva³, Nadezhda A. Yurtseva³, Elena K. Krivtsova³, Tatyana A. Nikitina³, Maria A. Konyashkina³, Marija P. Semenova³, Ivan A. Blokhin⁵, Victor A. Gombolevskiy^{5,6}

Effects of genome instability under irradiation in different CT scanning modes. Results of ex vivo pilot cohort study

¹Institution of Further Professional Education “Russian Medical Academy of Continuous Professional Education” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, 125993, Russian Federation;

²State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Moscow, 123098, Russian Federation;

³Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks of the FMBA, Moscow, 119121, Russian Federation;

⁴Kazan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kazan, 420012, Russian Federation;

⁵Moscow Center for Diagnostics and Telemedicine, Moscow, 127051, Russian Federation;

⁶Artificial Intelligence Research Institute (AIRI), Moscow, 121165, Russian Federation

Introduction. Medical radiation is one of the leading sources of public exposure in the world. In recent decades, the total number of X-ray diagnostic procedures has increased significantly, and with the increase in the volume of computed tomography (CT), a significant gain in the total cumulative radiation dose is also associated.

The aim of the work is to compare the genotoxic effects of irradiation of human blood lymphocytes using various CT protocols.

Materials and methods. Among patients of different genders and ages who sought for a preventive examination, nine practically healthy volunteers (donors) who signed an informed consent, were randomly selected to participate in the ex vivo experiment. 4 venous blood samples from each donor were irradiated on various CT protocols (0.82–11.8 mSv) in an anthropometric phantom of the human chest. Aliquots of each sample were cultured under conditions of cytokinesis block, recorded and analyzed according to the protocol of cytomic analysis in a micronucleus test.

Results. Irradiation of blood samples in the Ultra-NDCT mode (0.82 mSv) revealed a peak in the proliferation of rapidly dividing cells and the frequency of genetic damage in them, and also demonstrated a high probability of the formation and consolidation of genetic damage in generations of dividing cells. This indicates increased genotoxicity and, most likely, immunotropicity of the studied irradiation mode.

Limitation of the study is the inadmissibility of involving a person in an experiment or using biomaterials without obtaining his consent, as well as the inadmissibility of causing physical harm or harm to human honor and dignity during the experiment

Conclusion. When choosing CT modes, it is necessary to take into account not only the levels of effective doses, but also the possibility of developing the effects of genome instability. However, this approach requires additional genotoxic studies of CT protocols in the range from <1 to 100 mSv.

Keywords: CT scan; low-dose CT protocol effective dose; effective dose; human whole blood culture; effects of genome instability in ex vivo micronucleus assay

Compliance with ethical standards. The study was conducted in accordance with the Helsinki Declaration of the World Medical Association “Ethical Principles of Conducting Medical Research with human participation as a subject”, adopted at the 18th General Assembly of the WMA, Helsinki, Finland, June 1964 with all subsequent amendments and additions.

For citation: Okhrimenko S.E., Ingel F.I., Ryzhkin S.A., Akhaltseva L.V., Yurtseva N.A., Krivtsova E.K., Nikitina T.A., Konyashkina M.A., Semenova M.P., Blokhin I.A., Gombolevskiy V.A. Effects of genome instability under irradiation in different CT scanning modes. Results of ex vivo pilot cohort study. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2023; 102(10): 1112–1118. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2023-102-10-1112-1118> <https://elibrary.ru/npwfv> (In Russ.)

For correspondence: Sergey E. Okhrimenko, MD, Ph.D, Ass. Prof. Doctoral Student of the State Research Center of the Russian Federation, Burnasyan Federal Medical Biophysical Center, FMBA of Russia, Moscow, Russian Federation. E-mail: ooniii@mail.ru

Information about the authors:

Okhrimenko S.E., <https://orcid.org/0000-0002-8282-1798>
Ingel F.I., <https://orcid.org/0000-0002-2262-6800>
Ryzhkin S.A., <https://orcid.org/0000-0003-2595-353X>
Akhaltseva L.V., <https://orcid.org/0000-0002-3619-3858>
Yurtseva N.A., <https://orcid.org/0000-0001-5031-2916>
Krivtsova E.K., <https://orcid.org/0000-0002-5039-8980>
Nikitina T.A., <https://orcid.org/0000-0003-0866-5990>
Konyashkina M.A., <https://orcid.org/0000-0002-8319-1329>
Semenova M.P., <https://orcid.org/0000-0003-0904-0415>
Blokhin I.A., <https://orcid.org/0000-0002-2681-9378>
Gombolevskiy V.A., <https://orcid.org/0000-0003-1816-1315>

Contribution: Okhrimenko S.E., Ingel F.I. – concept and design of the study, collection and processing of the material, writing text, editing; Akhaltseva L.V., Yurtseva N.A., Krivtsova E.K., Nikitina T.A., Konyashkina M.A. – collection and processing of the material; Ryzhkin S.A. – the concept and design of the study, editing; Semenova M.P. – editing; Blokhin I.A. – writing text; Gombolevskiy V.A. – concept and design of the study, collection and processing of the material, writing text. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. This work was prepared with the participation of the team as part of the medical research project (No. USIS [in the Unified State Information System for Accounting of Research, Development, and Technological Works]: 123031500005-2) «Scientific rationale for diagnostic radiology in oncology using radiomics».

Received: August 8, 2023 / Accepted: September 26, 2023 / Published: November 20, 2023

Введение

Медицинское облучение (МО) является одним из ведущих источников облучения населения наряду с природным и хроническим профессиональным (техногенным). В отличие от последних МО носит неравномерный дискретный характер с относительно высокими мощностями доз, формируется на протяжении всей жизни, а накопленные дозы относятся к диапазону от очень малых до средних. Научный комитет ООН по действию атомной радиации (НКДАР) считает, что облучение пациентов в медицинских целях в количественном выражении остаётся самым значимым источником облучения населения.

С 1988 г. прослеживается тенденция к увеличению годовых эффективных доз населения за счёт медицинских источников и прежде всего за счёт лучевой диагностики. Средняя доза на душу населения в мире выросла с 0,37 мЗв в 1988 г. до 0,58 мЗв в 2021 г. Важно, что при 10%-м вкладе КТ в структуру МО её вклад в коллективную дозу составил 62%. По данным радиационно-гигиенических паспортов РФ за 2005–2021 гг., количество всех рентгеновских диагностических процедур увеличилось со 193 до 281 млн. Коллективная доза составила 142 000 чел.-Зв, и возросла по сравнению с 2020 г. на 20,9%, а вклад КТ в совокупную дозу МО достиг 76,7% (73,5% в 2020 г.) и продолжает расти. Эффективные дозы при КТ составляют от 3 до 50 мЗв за одно исследование. По данным экспертов МАГАТЭ, растёт как среднее число КТ-сканирований (13,4), так и максимальное (до 70) КТ на пациента, а кумулятивные дозы в отдельных случаях составляют до 100 мЗв и более [1–4]. Это ведёт к увеличению рисков развития отдалённых радиогенных стохастических последствий. Ограничения по дозе предусматриваются только для профилактических исследований (в РФ – не более 1 мЗв в год), тогда как основная доза формируется при диагностических исследованиях, для которых предусматривается режим оптимизации на основе международных рекомендаций [5–8].

Одним из путей оптимизации облучения является разработка низкодозовых протоколов КТ (НДКТ), что позволяет снижать дозы в 3–7 раз [4]. Выделяют три основные группы протоколов по дозе облучения: протоколы, соответствующие рекомендациям производителя, например, КТ органов грудной клетки (ОГК) – 8 мЗв; НДКТ – с пониженной дозой, но отвечающие требованиям к качеству диагностики; ультранизкодозовые протоколы (УНДКТ), применяемые, как правило, в скрининговых исследованиях, например, скрининге рака лёгкого (РЛ) у курильщиков. С 2020 г. протоколы с дозой лучевой нагрузки менее 1 мЗв рекомендованы Европейским обществом рентгенологов и Европейским респираторным обществом для скрининговых исследований [9, 10]. В США, согласно рекомендациям National Comprehensive Cancer Network 2019 г., для скрининга РЛ доза лучевой нагрузки ограничивается для лиц с индексом массы тела (ИМТ) до 30 кг/м² величиной 3 мЗв, а для лиц с ИМТ более 30 – величиной 5 мЗв [11]. По данным московской программы скрининга РЛ, при УНДКТ достигнута эффективная доза < 1 мЗв, и указанная технология включена в перечень профилактических исследований медицинского персонала наряду с ежегодными профилактическими флюорографическими исследованиями [12, 13].

В последние годы опубликованы результаты исследований, в которых показана линейная зависимость повреждений ДНК с увеличением дозы облучения. Статистически значимое увеличение количества фокусов γ H2AX (индикатор двухнитевых разрывов ДНК) в лимфоцитах крови пациентов, проходивших КТ в скрининге РЛ, обнаружено при облучении в дозе 5 мЗв, в то время как при облучении в дозе 1,5 мЗв статистически значимых различий не выявлено [14–16].

Рост количества рентгеновских диагностических процедур в РФ, в том числе связанных с пандемией COVID-19, может привести к увеличению риска развития стохастических эффектов, ассоциированных с повышенной частотой

генетических повреждений. Поэтому целью настоящего пилотного исследования стало сравнение степени выраженности эффектов нестабильности генома при облучении клеток крови человека *ex vivo* на различных протоколах КТ ОГК, применяемых в клинической практике.

Нулевая гипотеза исследования: при КТ-сканировании эффекты нестабильности генома линейно возрастают с увеличением дозы.

Материалы и методы

Исследование является когортным и перспективным.

Дизайн. Формирование групп. Критерии включения: пациенты, обратившиеся в лечебное учреждение после перенесённых болезней лёгких, без патологической симптоматики на момент проведения обследования. Критерии исключения: беременность (на момент обследования или за последние 12 мес до обследования), злокачественные новообразования и (или) болезни кровеносной системы (на момент обследования или в анамнезе); прохождение всех видов лучевой диагностики и терапии за последние 6 мес; обострение хронических болезней (на момент обследования или за последний месяц), температура тела выше 37,0 °С (на момент обследования или за последний месяц); применение лекарственных препаратов, влияющих на показатели стабильности генома, кроветворения или являющихся иммуномодуляторами (за последние 6 мес).

Для проведения эксперимента *ex vivo* случайным образом были отобраны 9 добровольцев (6 женщин и 3 мужчины), соответствующих указанным выше критериям, в возрасте от 25 до 70 лет, согласившихся на участие в данном исследовании и заполнивших бланк информированного согласия. У каждого участника обследования в условиях процедурного кабинета медицинской организации отбирали 4 пробы венозной крови объёмом 4 мл, которым присваивали индексы от 1 до 4 и собирали в индивидуальные наборы с учётом кода пациента. Контрольная проба имела маркировку «1». С момента взятия крови до облучения, после него и вплоть до помещения в культуру пробы хранили при температуре плюс 4 °С вне сканера. Там же во время облучения хранили все контрольные пробы.

Для облучения проб крови на различных протоколах КТ-сканирования использовали антропометрический состоящий из полиуретана и эпоксидной смолы сборно-разборный фантом грудной клетки Lungman Phantom N1 (Kyoto Kagaku, Япония), имитирующий грудную клетку взрослого мужчины (рис. 1, см. на вклейке).

Облучение стерильно закрытых вакутейнеров с кровью, размещённых в ткани «лёгочного дерева», осуществляли на спиральном томографе Toshiba Aquilion 64 Canon Medical Systems (Simens, Japan) на различных протоколах КТ (см. таблицу). Для этого пробы крови № 2–4 от каждого донора поочередно вносили в помещение томографа и крепили в фантоме, который помещали в томограф в качестве «пациента». Сканирование проходило в течение 10 с. Оценку доз проводили в соответствии с Методическими указаниями¹. Параметры протоколов сканирования и эффективные дозы приведены в таблице.

Постановка культуры и цитомный анализ. Для оценки индивидуальных эффектов нестабильности генома 600 мкл каждой пробы крови от каждого участника обследования культивировали в условиях цитокинетического блока в среде F10 с добавлением 20% сыворотки крупного рогатого скота. Блок цитокинеза создавали на 44-м часу от начала культивирования добавлением 6 мкг/мл цитохалазина В [17]. Через 72 ч от начала культивирования гипотонизирован-

¹ Контроль эффективных доз облучения пациентов при проведении медицинских рентгенологических исследований. Методические указания МУ 2.6.1.2944–11. Изменения в МУ 2.6.1.2944–11 «Контроль эффективных доз облучения пациентов при проведении медицинских рентгенологических исследований». Методические указания МУ 2.6.1.3584–19.

Параметры протоколов сканирования и эффективные дозы

Parameters of scanning modes and effective doses

Параметры облучения The parameters of irradiation	Протокол КТ / CT Scan modes		
	Ультранизкодозовый Ultra low-dose	Низкодозовый Low-dose	Стандартный Standard
	Проба (Sample) 2	Проба (Sample) 3	Проба (Sample) 4
Напряжение, кВ / Voltage, kV	135	120	120
Количество электричества, мАс / Electricity amount, mAs	8	21	169
Доза на длину сканирования (DLP), мГр / Dose Length Product (DLP), mGr	48.2	75.4	693.2
Эффективная эквивалентная доза (E), мЗв* / Effective equivalent dose (E), mSv	0.82***	1.28	11.78
Эффективная эквивалентная доза (E), мЗв** / Effective equivalent dose (E), mSv	0.58	0.90	8.32

Примечание. * МУ 2.6.1.2944–1, «К» пересчёта к эффективной дозе – 0,017; ** Изменения к МУ 2.6.1.2944–11 МУ 2.6.1.3584–19, «К» пересчёта – 0,012. *** Поскольку основной этап работы выполнялся в период до введения изменений в МУ, в дальнейшем по тексту приводится только одно значение эффективной дозы 0,82 мЗв, но анализ и выводы в равной степени распространяются и для эффективной дозы 0,58 мЗв.

Note. * MU 2.6.1.2944-1, "K" of the recalculation to an effective dose – 0.017; ** Changes to MU 2.6.1.2944-11 MU 2.6.1.3584-19, "K" of the recalculation – 0.012. *** Since the main stage of the work was carried out in the period before the introduction of changes to the MU, only one value of the effective dose of 0.82 mSv is given in the text, but the analysis and conclusions equally apply to the effective dose of 0.58 mSv.

ные клетки фиксировали в смеси спирта с ледяной уксусной кислотой (3 : 1) и раскапывали на замороженные предметные стёкла. Полученные цитогенетические препараты окрашивали азур-эозином по Романовскому и шифровали с расшифровкой после окончания цитомного анализа всех препаратов. Цитомный анализ проводили по протоколу, описанному в [18], в два этапа, выбирая только те поля зрения, на которых можно идентифицировать все клетки. На первом этапе при подсчёте 500 отдельно лежащих клеток определяли спектр клеточных популяций (количество клеток с числом ядер одно, два, три, четыре и более) и эффекты нестабильности генома в каждом из этих типов клеток, учитывая клетки с микроядрами (МЯ), с нуклеоплазменными мостами (НПМ) и с протрузиями разных типов, а также частоты клеток в состоянии митоза и апоптоза. На втором этапе на других участках каждого препарата учитывали те же типы генетических повреждений только в двуядерных клетках таким образом, чтобы на каждом стекле за два этапа цитомного анализа было проанализировано 1000 двуядерных клеток. Статистический анализ различий проводили с использованием непараметрического критерия Манна – Уитни, корреляционный анализ – путём парных сравнений с использованием критерия Спирмена. Значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты

Цитомный анализ в рамках использованного протокола позволяет учесть не только разные типы повреждений ДНК, но и особенности пролиферации и гибели клеток. Поскольку в нашем исследовании в когорту доноров намеренно включали людей разного возраста, проведена проверка зависимости изученных показателей от возраста. Значимых корреляций между возрастом доноров и всеми данными цитомного анализа не выявлено.

При обработке результатов цитомного анализа важно понимать, что цитохалазин В блокирует цитокинез (происшедший после того, как клетка претерпела деление ядра) с образованием многоядерных клеток, что позволяет определить количество клеточных циклов, которые претерпела каждая клетка с момента введения в культуру цитохалазина В. Продолжительность культивирования клеток рассчитана авторами теста таким образом, чтобы максимальное количество делящихся клеток прошло в присутствии цитохалазина В один цикл деления и, следовательно, содержало два ядра. Обычно двуядерные клетки составляют 40–50% от всех живых клеток в культуре. При этом в каждой культуре всегда имеются клетки, делящиеся ускоренно (прошедшие в присутствии цитохалазина В более двух циклов), которые содержат больше двух ядер. Эта фракция обычно

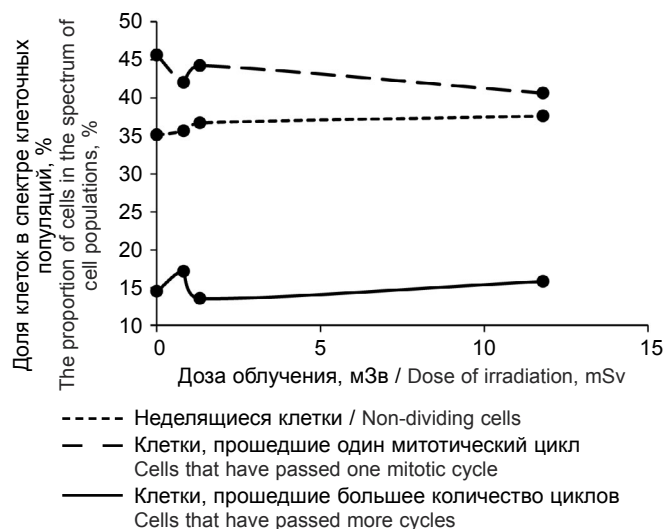


Рис. 2. Дозовые зависимости пролиферации клеток, прошедших различное количество митотических циклов за время культивирования в присутствии цитохалазина В, %.

Fig. 2. Dose dependences of proliferation for cells passed different number of mitotic cycles during cultivation in the presence of Cytochalazine B, %.

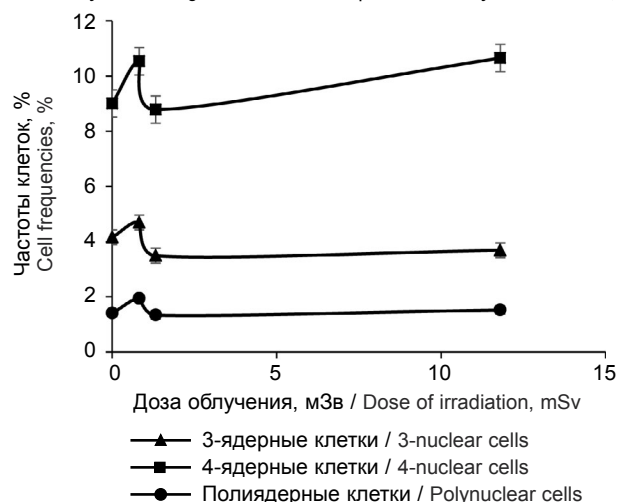


Рис. 3. Дозовые зависимости пролиферации в субфракциях ускоренно делящихся клеток.

Fig. 3. Dose dependency of proliferation in different subfractions of accelerated dividing cells.

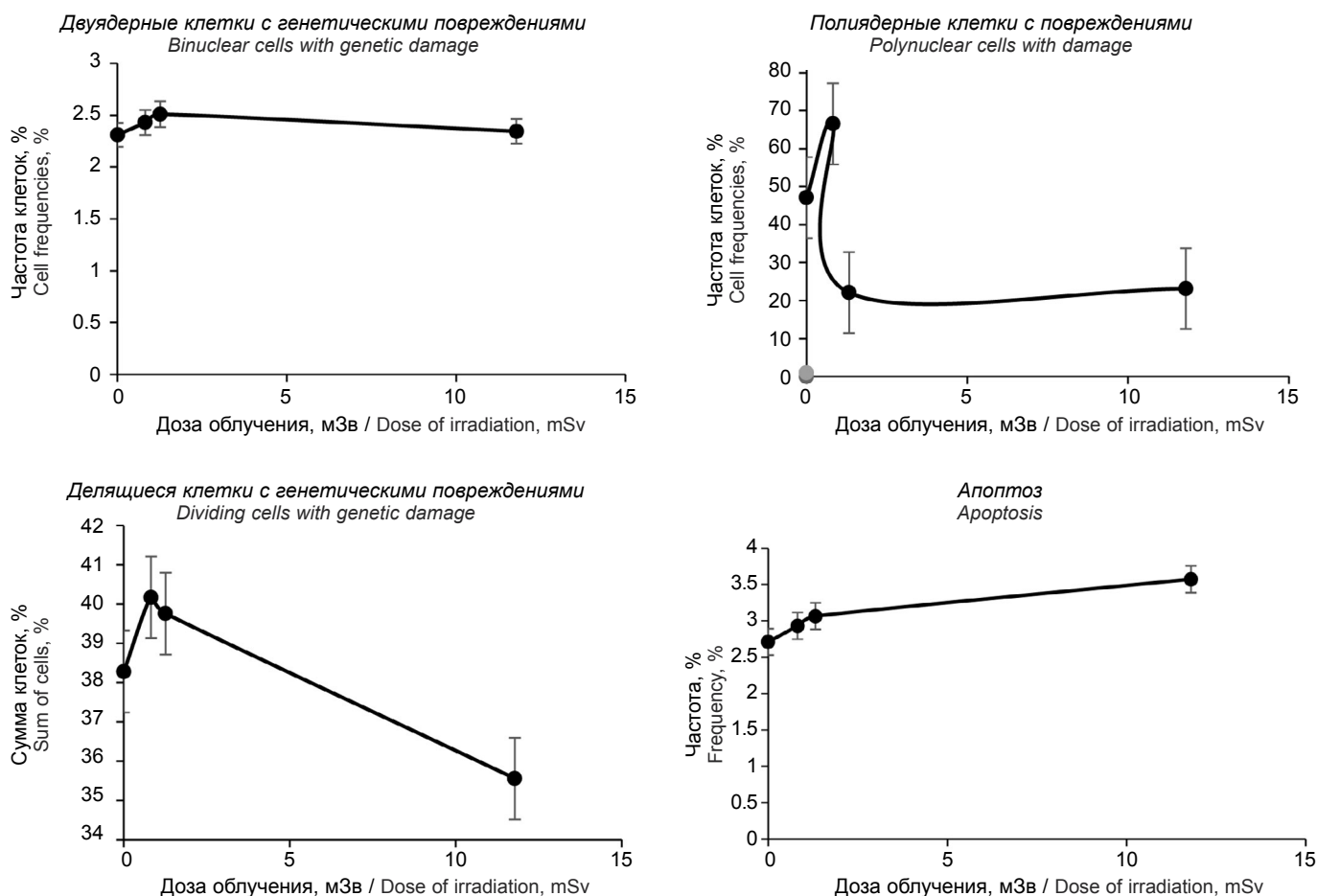


Рис. 4. Генетические повреждения в различных фракциях делящихся клеток и доля клеток в состоянии апоптоза в спектре клеточных популяций.
Fig. 4. Genetic damages in different fractions of dividing cells and the proportion of cells in the state of apoptosis in the spectrum of cell populations.

составляет 10–20% от всех живых клеток в культуре и содержит как клетки, прошедшие два цикла деления (содержат три или четыре ядра), так и некоторое количество клеток с большим количеством ядер, прошедших большее число циклов. Кроме того, около 40% клеток, присутствующих в каждой культуре, содержат одно ядро. Эти клетки в присутствии цитохалазина В не делились. Таким образом, на момент завершения культивирования в каждой культуре присутствуют две основные фракции клеток: неделящиеся и делящиеся. Фракция делящихся клеток представлена тремя субфракциями: клетками, прошедшими один, два и большее количество циклов деления в присутствии цитохалазина В. На рис. 2 показана дозозависимая динамика численности клеточных фракций, прошедших разное количество циклов деления в присутствии цитохалазина В.

Как видно на рис. 2, достоверные различия численности разных фракций клеток в динамике доз облучения не выявлены для неделящихся (одноядерных) клеток, а также для клеток, прошедших один митотический цикл (двуядерных). В то же время численность фракции ускоренно делящихся клеток при облучении в дозе 0,82 мЗв была статистически значимо больше не только по сравнению с контролем, но и по сравнению с клетками, облучёнными в дозах 1,28 и 11,8 мЗв. Более детальный анализ особенностей пролиферации ускоренно делящихся клеток (рис. 3) показал статистически значимое увеличение численности каждой субфракции в условиях облучения культуры именно в дозе 0,82 мЗв по сравнению как с контролем, так и с эффектами облучения в дозах 1,28 и 11,8 мЗв.

Влияние дозы облучения на количество и тип генетических повреждений в клетках, прошедших разное количество

циклов деления, а также на частоту клеток в состоянии апоптоза показано на рис. 4.

Как видно на рис. 4, в разных фракциях и в зависимости от дозы облучения частота делящихся клеток с генетическими повреждениями значительно варьировала, причём в однотипной динамике с пиком при облучении в дозе 0,82 мЗв. Повреждения (микроядра всех типов и нуклеоплазменные мосты) возникали в клетках, прошедших один и более циклов деления. Максимальное количество клеток с повреждениями обнаружено во фракции ускоренно делящихся клеток, причём именно эта фракция дала пик увеличения численности при облучении в минимальной из использованных доз – 0,82 мЗв (см. рис. 4). В то же время частота апоптотических клеток примерно соответствовала частоте двуядерных клеток с генетическими повреждениями и в зависимости от дозы облучения изменялась мало (2,7–3,6%), но в среднем была значимо меньше суммарной частоты всех делящихся клеток с повреждениями.

Обсуждение

В настоящем исследовании получены следующие результаты.

1. Облучение цельной крови в диапазоне использованных эффективных доз (0,82–11,8 мЗв) индуцировало нелинейные эффекты пролиферации с пиком на минимальной дозе как в суммарной фракции ускоренно делящихся клеток, так и в её субфракциях, прошедших два и более циклов деления за время культивирования в присутствии цитохалазина В.

2. При облучении в дозе 0,82 мЗв в клетках всех фракций происходило статистически значимое повышение частоты клеток, несущих генетические повреждения, причём максимальная частота клеток с повреждениями обнаружена именно во фракции ускоренно делящихся (полиядерных) клеток.

3. Частота апоптотических клеток была ниже суммарной частоты делящихся клеток с генетическими повреждениями.

4. Выявленные эффекты облучения не зависели от пола и возраста доноров крови.

5. Поскольку при культивировании крови пул делящихся клеток на 95% состоит из Т-лимфоцитов, очевидно, что в нашем эксперименте проявилось иммунотропное действие редкоизирующего излучения в области эффективных доз 1 мЗв и менее.

Обнаруженные эффекты могут свидетельствовать либо о нечувствительности систем репарации ДНК к повреждениям, возникшим в клетках при облучении в дозе 0,82 мЗв (потому что в противном случае это вызвало бы задержку, а не ускорение продвижения клеток в цикле, и количество ускоренно делящихся клеток было бы меньше, чем в контроле), либо о наличии нарушений в системах репарации повреждений ДНК или ошибок, возникших при её репликации, либо о недостаточности или блоке апоптоза с увеличением вероятности возникновения и закрепления в ряду клеточных поколений разнообразных изменений генома, либо о реализации сразу нескольких механизмов [19]. В любом случае совокупность перечисленных эффектов нестабильности генома ассоциирована с опухолевой трансформацией клеток и обеспечивает их закрепление в ряду клеточных поколений. Поэтому численность фракции ускоренно делящихся клеток и уровень нестабильности генома в них могут являться маркёром генотоксического эффекта исследованных режимов КТ-сканирования. Полученные данные можно сравнить с результатами исследования (Д.М. Спитковский, 2000) [20], в котором по результатам экспериментов *in vitro* высказано предположение о наличии среди лимфоцитов крови фракции, небольшой по численности клеток, но наиболее чувствительной к облучению ниже 1 мГр. Эффекты, обнаруженные в нашей работе, согласуются с данными, описывающими феномены «начальной гиперрадиочувствительности и последующей гиперрезистентности клеток при облучении *in vitro*,

в очень малых, малых и примыкающих к ним средних дозах рентгеновского облучения» [6]. Кроме того, надо учитывать ряд особенностей КТ: характеристику пучка излучения, высокую мощность дозы, длительность облучения, а также возможно более высокую биологическую эффективность рентгеновского излучения по сравнению с гамма-излучением, установленную ранее в экспериментальных исследованиях, и соответственно более высокий коэффициент линейной передачи энергии для излучений с энергиями < 0,1 МэВ [21, 22]. Поэтому мы предполагаем, что воздействие излучения в минимальной из использованных доз было достаточным для индукции повреждений в популяции чувствительных (ускоренно делящихся) клеток, что проявилось как сокращение продолжительности клеточного цикла и увеличение частоты клеток с повреждениями, но было недостаточно для индукции репарации ДНК в них, о чём свидетельствует соотношение частот клеток в состоянии апоптоза и клеток с генетическими повреждениями. Полученные данные свидетельствуют о том, что выбор режимов КТ необходимо обосновывать не только величиной дозы облучения, но и возникающими биологическими эффектами, для чего требуется проведение дополнительных исследований указанных эффектов при различных режимах КТ, в том числе в диапазоне от очень малых до малых доз (от < 1 до 100 мЗв).

Заключение

Впервые при облучении проб венозной крови доноров разного пола и возраста в режиме ультра-НДКТ (0,82 мЗв) получены результаты, свидетельствующие о высокой вероятности образования и закрепления генетических повреждений в поколениях делящихся клеток. Это указывает на повышенную генотоксичность и иммунотропное² действие исследуемого режима облучения. Показано отсутствие влияния на эффекты облучения пола и возраста доноров. Вопрос о генотоксических эффектах различных режимов КТ требует дальнейшего углублённого исследования.

² Поскольку 95% делящихся клеток в культуре крови составляют Т-лимфоциты, в которых выявляются генотоксические эффекты, КТ в принципе может обладать иммунотропным действием.

Литература (п.п. 5, 10, 11, 14–16 см. References)

- Аклеев А.В., Азизова Т.В., Иванов В.К., Карпикова Л.А., Киселев С.М., Мелихова Е.М. и др. Итоги 67-й сессии Научного комитета по действию атомной радиации ООН. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2021; 23(1): 56–65. <https://doi.org/10.47183/mes.2021.001> <https://elibrary.ru/gammim>
- Роспотребнадзор. Результаты радиационно-гигиенической паспортизации в субъектах Российской Федерации. Радиационно-гигиенические паспорта Российской Федерации. М.; 2005–2021.
- Василенко Е. Актуальность проблемы обоснования лучевых процедур. Позиция и рекомендации МАГАТЭ (презентация). Межведомственный круглый стол по вопросам применения принципа обоснования в медицинской практике в РФ. М.; 2019.
- Маткевич Е.И., Синицын В.Е., Башков А.Н. Сравнение доз облучения пациентов при проведении однофазной и многофазной компьютерной томографии в многопрофильном лечебном учреждении. *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2016; 61(6): 50–6. <https://elibrary.ru/xhcywb>
- Котеров А.Н., Вайнсон А.А. Биологические и медицинские эффекты излучения с низкой ЛПЭ для различных диапазонов доз. *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2015; 60(3): 5–31. <https://elibrary.ru/twmxgr>
- Охрименко С.Е., Ильин Л.А., Коренков И.П., Морозов С.П., Бирюков А.П., Гомболевский В.А. и др. Оптимизация доз облучения пациентов в лучевой диагностике. *Гигиена и санитария*. 2019; 98(12): 1331–7. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2019-98-12-1331-1337>
- Балонов М.И., Голиков В.Ю., Водоватов А.В., Чепига Л.А., Звонова И.А., Кальницкий С.А. и др. *Научные основы радиационной защиты в современной медицине. Том 1. Лучевая диагностика*. СПб.; 2019. <https://elibrary.ru/cspnad>
- Гомболевский В.А., Чернина В.Ю., Блохин И.А., Николаев А.Е., Барчук А.А., Морозов С.П. Основные достижения низкодозной компьютерной томографии в скрининге рака легкого. *Туберкулёз и болезни лёгких*. 2021; 99(1): 61–70. <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2021-99-1-61-70> <https://elibrary.ru/zlxytk>
- Морозов С.П., Гомболевский В.А., Владимирский А.В., Лайпан А.Ш., Кононец П.В., Древалъ П.А. Результаты первого года скрининга рака легкого с помощью низкодозной компьютерной томографии в Москве. *Вопросы онкологии*. 2019; 65(2): 224–33. <https://elibrary.ru/yuuxis>
- Приказ Департамента здравоохранения города Москвы № 129 «Об усилении мероприятий по предупреждению возникновения и распространения туберкулеза среди работников медицинских организаций государственной системы здравоохранения города Москвы». М.; 2018.
- Ингель Ф.И. Перспективы использования микроядерного теста на лимфоцитах крови человека, культивируемых в условиях цитокинетического блока. Часть 1. Проплиферация клеток. *Экологическая генетика*. 2006; 4(3): 7–19. <https://elibrary.ru/hznvud>
- Ингель Ф.И. Перспективы использования микроядерного теста на лимфоцитах крови человека, культивируемых в условиях цитокинетического блока. Часть 2. Факторы среды и индивидуальные особенности в системе оценки нестабильности генома человека. *Экологическая генетика*. 2006; 4(4): 38–54. <https://elibrary.ru/hznvet>
- Копнин Б.П. Основные свойства неопластической клетки и базовые механизмы их возникновения. *Практическая онкология*. 2002; 3(4): 229–35. <https://elibrary.ru/scbgyx>
- Спитковский Д.М., Кузьмина И.В., Вейко Н.М., Ермаков А.В., Макаренко А.А., Поспехова Н.И. и др. О возможной связи мутационного процесса, индуцированного малыми дозами ионизирующей радиации, и позиционной динамики хромосом в ядрах клеток эукариот. *Радиационная биология и радиоэкология*. 2000; 40(5): 554–66.
- Ильин Л.А., ред. *Радиационная медицина. Том 1. Теоретические основы радиационной медицины. Руководство для врачей-исследователей, организаторов здравоохранения и специалистов по радиационной безопасности*. М.; 2004.
- Машкович В.П., Кудрявцев А.В. *Защита от ионизирующих излучений. Справочник*. М.: Столица; 2013.

References

1. Akleev A.V., Azizova T.V., Ivanov V.K., Karpikova L.A., Kiselev S.M., Melikhova E.M., et al. Results of the 67th session of the United Nations Scientific Committee on the Effects of the Atomic Radiation (UNSCEAR). *Meditsina ekstremal'nykh situatsiy*. 2021; 23(1): 56–65. <https://doi.org/10.47183/mes.2021.001> <https://elibrary.ru/gammmi> (in Russian)
2. Rospotrebnadzor. The results of radiation-hygienic certification in the subjects of the Russian Federation. Radiation hygienic passports of the Russian Federation Moscow, Moscow; 2005–2021. (in Russian)
3. Vasilieva Ye. Relevance of the problem of justification of radiation procedures. Position and recommendations of the IAEA (presentation). Interdepartmental round table application of the principle of justification in medical practice in the Russian Federation. Moscow; 2019. (in Russian)
4. Matkevich E.I., Sinitsyn V.E., Bashkov A.N. Comparison of radiation dose of patients during single-phase and multiphase computed tomography in the multidisciplinary treatment clinic. *Meditsinskaya radiologiya i radiatsionnaya bezopasnost'*. 2016; 61(6): 50–6. <https://elibrary.ru/xhcywb> (in Russian)
5. The 2007 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection. ICRP publication 103. *Ann. ICRP*. 2007; 37(2–4): 1–332. <https://doi.org/10.1016/j.icrp.2007.10.003>
6. Koterov A.N., Vaynson A.A. Health effects of low let radiation for various dose ranges. *Meditsinskaya radiologiya i radiatsionnaya bezopasnost'*. 2015; 60(3): 5–31. <https://elibrary.ru/twmxgr> (in Russian)
7. Okhrimenko S.E., Il'in L.A., Korenkov I.P., Morozov S.P., Biryukov A.P., Gombolevskiy V.A., et al. Optimization of radiation doses to patients in X-ray diagnostics. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2019; 98(12): 1331–7. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2019-98-12-1331-1337> (in Russian)
8. Balonov M.I., Golikov V.Yu., Vodovatov A.V., Chepiga L.A., Zvonova I.A., Kal'nitskiy S.A., et al. *Scientific Foundations of Radiation Protection in Advanced Medicine. Volume 1. Radiation Diagnostics [Nauchnye osnovy radiatsionnoy zashchity v sovremennoy meditsine. Tom 1. Luchevaya diagnostika]*. St. Petersburg; 2019. (in Russian)
9. Gombolevskiy V.A., Chemina V.Yu., Blokhin I.A., Nikolaev A.E., Barchuk A.A., Morozov S.P. Main achievements of low-dose computed tomography in lung cancer screening. *Tuberkulez i bolezni legkikh*. 2021; 99(1): 61–70. <https://doi.org/10.21292/2075-1230-2021-99-1-61-70> <https://elibrary.ru/zlxylk> (in Russian)
10. Kauczor H.U., Baird A.M., Blum T.G., Bonomo L., Bostantzoglou C., Burghuber O., et al. ESR/ERS statement paper on lung cancer screening. *Eur. Radiol*. 2020; 30(6): 3277–94. <https://doi.org/10.1007/s00330-020-06727-7>
11. American Association of Physicists in Medicine. Lung Cancer Screening CT Protocols, version 4.0; 2016.
12. Morozov S.P., Gombolevskiy V.A., Vladzimirskiy A.V., Laypan A.Sh., Kononets P.V., Dreval' P.A. Low-dose computed tomography in Moscow for lung cancer screening (LDCT-MLCS): baseline results. *Voprosy onkologii*. 2019; 65(2): 224–33. <https://elibrary.ru/yyuuxis> (in Russian)
13. Order of the Department of Health of the City of Moscow № 129 «On strengthening measures to prevent the occurrence and spread of tuberculosis among employees of medical organizations of the state healthcare system of the city of Moscow». Moscow; 2018. (in Russian)
14. Freeman A.K., Monteiro A.N. Phosphatases in the cellular response to DNA damage. *Cell Commun. Signal*. 2010; 8: 27. <https://doi.org/10.1186/1478-811x-8-27>
15. Rothkamm K., Balroop S., Shekhdar J., Fernie P., Goh V. Leukocyte DNA damage after multi-detector row CT: a quantitative biomarker of low-level radiation exposure. *Radiology*. 2007; 242(1): 244–51. <https://doi.org/10.1148/radiol.2421060171>
16. Sakane H., Ishida M., Shi L., Fukumoto W., Sakai C., Miyata Y., et al. Biological effects of low-dose chest CT on chromosomal DNA. *Radiology*. 2020; 295(2): 439–45. <https://doi.org/10.1148/radiol.2020190389>
17. Ingel' F.I. Prospects of using a micronuclear test on human blood lymphocytes cultured under cytokinetic block conditions. Part 1. Cell proliferation. *Ekologicheskaya genetika*. 2006; 4(3): 7–19. <https://elibrary.ru/hznuvd> (in Russian)
18. Ingel' F.I. Prospects of using a micronuclear test on human blood lymphocytes cultured under cytokinetic block conditions. Part 2. Environmental factors and individual characteristics in the human genome instability assessment system. *Ekologicheskaya genetika*. 2006; 4(4): 38–54. <https://elibrary.ru/hznvet> (in Russian)
19. Kopnin B.P. Basic properties of neoplastic cells and basic mechanisms of their occurrence. *Prakticheskaya onkologiya*. 2002; 3(4): 229–35. <https://elibrary.ru/sbgyx> (in Russian)
20. Spitzkovskiy D.M., Kuz'mina I.V., Veyko N.M., Ermakov A.V., Makarenkov A.A., Pospekhova N.I., et al. On the possible connection between the mutation process induced by low doses of ionizing radiation and the positional dynamics of chromosomes in the nuclei of eukaryotic cells. *Radiatsionnaya biologiya i radioekologiya*. 2000; 40(5): 554–66. (in Russian)
21. Il'in L.A., ed. *Radiation Medicine. Volume 1. Theoretical Foundations of Radiation Medicine. A Guide for Medical Researchers, Health Care Organizers and Radiation Safety Specialists [Radiatsionnaya meditsina. Tom 1. Teoreticheskie osnovy radiatsionnoy meditsiny. Rukovodstvo dlya vrachey-issledovateley, organizatorov zdavoookhraneniya i spetsialistov po radiatsionnoy bezopasnosti]*. Moscow; 2004. (in Russian)
22. Mashkovich V.P., Kudryavtsev A.V. *Protection from Ionizing Radiation. Guide [Zashchita ot ioniziruyushchikh izlucheniy. Spravochnik]*. Moscow: Stolitsa; 2013. (in Russian)

К статье С.Е. Охрименко и соавт.
To the article by Sergey E. Okhrimenko et al.

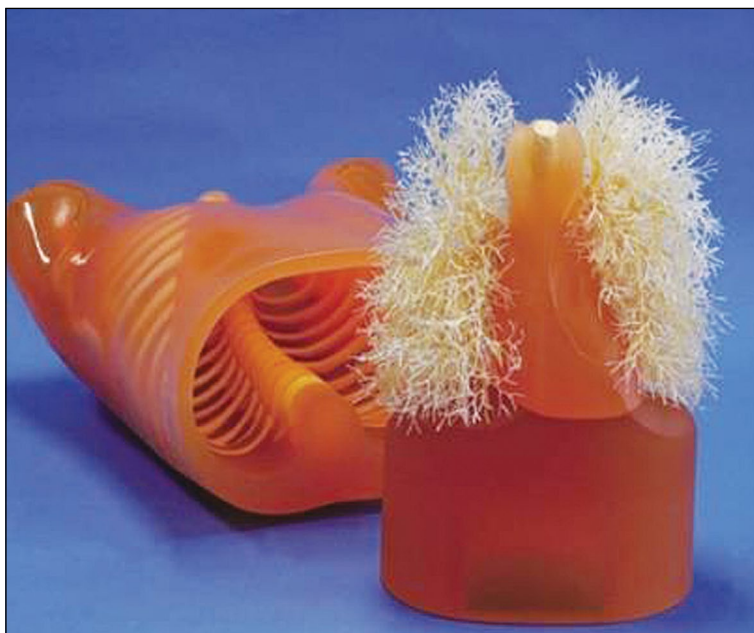


Рис. 1. Внешний вид тканезквивалентного фантома Lungman Phantom N1.
Fig. 1. The appearance of the tissue-equivalent phantom Longman Phantom N1.