

УДК [57+61]:575.224.232:616-00

Обзор

FISH-МЕТОД: СПОСОБ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕТРОСПЕКТИВНОЙ ОЦЕНКИ ДОЗЫ (ОБЗОР)

В. Ю. Нугис — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, заведующий лабораторией радиационной гематологии и цитогенетики, доктор биологических наук.

FISH-METHOD: TECHNIQUE OF CYTOGENETIC RETROSPECTIVE DOSE EVALUATION (REVIEW)

V. Yu. Nugis — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan of Federal Medical Biological Agency, Head of Laboratory of Radiation Hematology and Cytogenetics, Doctor of Biological Sciences.

Дата поступления — 21.11.2016 г.

Дата принятия в печать — 08.12.2016 г.

Нугис В. Ю. FISH-метод: способ цитогенетической ретроспективной оценки дозы (обзор). Саратовский научно-медицинский журнал 2016; 12 (4): 671–678.

Представлен обзор данных научной литературы, посвященной FISH-методу как способу ретроспективной оценки дозы. Рассмотрены проблемы ретроспективной цитогенетической оценки дозы в целом; молекулярно-биологических основ FISH-метода; видов aberrации хромосом, идентифицируемых с помощью FISH-метода; принципов построения дозовых кривых для FISH-регистрируемых транслокаций хромосом. Сделан вывод о необходимости привлечения трехцветного и многоцветного вариантов методики к ретроспективной оценке дозы.

Ключевые слова: культура лимфоцитов периферической крови, aberrации хромосом, FISH-метод, оценка дозы.

Nugis VYu. FISH-method: technique of cytogenetic retrospective dose evaluation (review). Saratov Journal of Medical Scientific Research 2016; 12 (4): 671–678.

The purpose of this work was to submit the review of data of the scientific literature devoted to a FISH method as a way of cytogenetic retrospective dose evaluation. Problems of cytogenetic retrospective assessment of a dose in general; molecular and biological bases of a FISH-method; types of chromosome aberrations identified by means of a FISH-method; the principles of creation of dose curves for the FISH-registered chromosome translocations have been considered. The conclusion is drawn on need of attraction of three-color and multi-color variants of this technique to retrospective dose evaluation.

Key words: peripheral blood lymphocyte culture, chromosome aberrations, FISH-method, dose evaluation.

Проблема ретроспективной цитогенетической оценки дозы. В периодически переиздаваемых международных рекомендациях МАГАТЭ [1, 2] по использованию анализа aberrаций хромосом в качестве способа биологической «дозиметрии» в связи с радиационными происшествиями большое внимание уделяется не только индикации дозы острого облучения в ближайшие сроки после воздействия с помощью классического метода окраски хромосом, но и возможностям применения различных цитогенетических подходов для ретроспективной оценки полученных доз.

По своей потенциальной способности элиминировать или сохраняться с течением времени после облучения все виды aberrаций хромосом можно соответственно разделить на нестабильные (дицентрики и другие полицентрики, центрические и ацентрические кольца, парные ацентрические фрагменты, хроматидные aberrации) и стабильные (реципрокные транслокации, или симметричные обмены; парацентрические и перичентрические инверсии; вставки, или инсерции). Исторически для анализа хромосом первой была разработана «классическая» методика их однородной окраски, обеспечивающая регистрацию в основном нестабильных aberrаций и лишь частично стабильных aberrаций. Для их более полного выявления используют G- и FISH (fluorescence in situ hybridization) — окрашивание хромосом.

В дочернобыльский период в наиболее развитом виде цитогенетические исследования культур лимфоцитов периферической крови в отдаленные сроки после облучения были выполнены на материале, полученном от японцев, пострадавших при атомных

бомбардировках Хиросимы и Нагасаки (1945 г.). По мере их разработки были использованы и классическая, и G-, и FISH-окраски хромосом. Стоит отметить вывод, который сделали в результате исследований японские коллеги по поводу возможности выявления стабильных перестроек разными способами. Они показали [3, 4], что если принять количество радиационно индуцированных транслокаций, определяемых с помощью G-окраски, за 100%, то одноцветный FISH-метод после пересчета на весь геном дает в принципе почти идентичную частоту стабильных перестроек хромосом. При использовании классического метода можно зарегистрировать около 20% транслокаций. Если же при той же однородной окраске дополнительно осуществлять должное кариотипирование, то можно выявить еще 50% соответствующих перестроек, и, таким образом, неучетными останутся 30% транслокаций, что не так уж и плохо. Однако необходимо отметить, что под должным кариотипированием понимается попытка идентифицировать отдельные пары хромосом, а не осуществить только распределение большей части хромосом по известным группам. С нашей точки зрения, это «должное кариотипирование» весьма проблематично. При стандартном кариотипировании по группам выявляемость транслокаций в случае использования классического метода, по данным разных авторов, составляла не более 10% [5] или 29% [6] по сравнению с геномной частотой FISH-регистрируемых транслокаций.

С точки зрения цитогенетика, японскому циклу работ (во всех остальных отношениях, безусловно, безупречному) присущ один единственный объективный недостаток: отсутствуют входные, а именно сделанные в ближайшие сроки после атомной бомбардировки, подсчеты aberrаций хромосом. Оценки первоначально поглощенных доз получены на осно-

Ответственный автор — Нугис Владимир Юрьевич
Тел. (сот.): +79258463120
E-mail: nugisvju@list.ru

вании физических расчетов, содержащих определенные допущения. Действительно, возможность производить цитогенетические исследования культуры лимфоцитов периферической крови стала доступна японским (как, впрочем, и другим) исследователям только в 1965–1968 гг. [3, 7], т.е. через 20 лет после радиационного воздействия.

Относительно метода G-окраски хромосом сразу следует сказать, что хотя он в меру своего разрешения и обеспечивает относительно полное каритипирование, однако весьма трудоемок и требует высококвалифицированного персонала. Поэтому в радиационной цитогенетике его использовали достаточно редко, например в работах [8, 9]. FISH-метод считается наиболее предпочтительным для ретроспективной оценки дозы [10], но и с ним оказалось не все так просто. В исследовании [11] через 10 лет после аварии на Чернобыльской АЭС показано, что частота регистрируемых FISH-транслокаций соответствует первоначальной частоте дицентриков (в предположении их равновероятной индукции) только до дозы 2 Гр. Аналогичные данные получены при обследовании лиц, пострадавших при аварии в Гойянии (Бразилия) в 1987 г., когда расхождение первоначальных частот дицентриков и частот транслокаций, идентифицируемых через 8 лет после облучения, началось с еще более низкой дозы 1 Гр [12]. Таким образом, в своем первоначальном виде [13], когда оценка дозы производится по зависимости «доза — частота FISH-транслокаций после облучения крови здоровых доноров *in vitro*», данный метод будет работать только до 1–2 Гр. На практике для большинства случаев ретроспективной оценки дозы этого вполне достаточно.

В настоящее время наиболее употребительным является «одноцветный» FISH, когда какие-либо три пары крупных хромосом окрашены одним флуоресцентным красителем [14–17]. Однако при таком варианте FISH-окрашивания не видны перестройки между этими тремя парами хромосом, тогда как учет дополнительного числа перестроек может повысить чувствительность метода в области низких доз.

Молекулярно-биологические основы FISH-метода. Метод FISH основан на фундаментальном свойстве двух комплементарных нитей ДНК любого размера разделяться (плавление) при нагревании в соответствующем буфере и соединяться снова (гибридизация, отжиг) при охлаждении раствора за счет разрушения и восстановления водородных связей между комплементарными азотистыми основаниями. На самом деле в 1969 г. исходно была предложена методика *in situ* гибридизации (ISH) с использованием проб ДНК, меченных тритием или другими изотопами, с последующей автордиографией (см. [18]). Однако из-за ряда практических трудностей и необходимости соблюдения режима радиационной безопасности данный методический подход не нашел широкого применения при цитогенетическом анализе [19–23]. Поэтому замена радиоактивной метки на флуоресцентную [24–26] стала колоссальным прогрессивным шагом, что отмечается различными авторами [18–20, 24–26].

Размеры ДНК-пробы (зондов) в настоящее время в зависимости от поставленной задачи могут варьироваться в широких пределах: от 1000 пар нуклеотидов до миллионов пар нуклеотидов, при этом мишенью могут служить как отдельные гены и участки хромосом, так и целые хромосомы и весь геном [20, 26, 29].

По месту прикрепления ДНК-зонды могут быть подразделены на следующие группы [20, 25, 27, 28]:

1. Цельнохромосомные зонды (зонды полного окрашивания хромосом или их крупных частей, например коротких и длинных плеч) — Whole Chromosome Painting (WCP). Они представляют собой набор олигонуклеотидных фрагментов ДНК, равномерно покрывающих какую-либо хромосому вдоль всей ее длины или только часть ее от короткого или длинного плеча до меньших регионов. Они гибридизируются на обоих хромосомных гомологах и используются только на метафазных хромосомах, выявляя хромосомные перестройки (транслокации и др.) различной сложности.

2. Зонды, состоящие из повторяющихся последовательностей ДНК.

2а. Центромерные зонды (хромосомные нумераторы) — Chromosome Enumerator Probe (CEP): полностью или относительно специфичны к тандемным альфа- и бета-сателлитным повторам, расположенным преимущественно в центромерных и прицентромерных гетерохроматиновых участках хромосом. При этом имеются минимальные различия центромерных ДНК-последовательностей между 5-й и 9-й, 13-й и 21-й, а также 14-й и 22-й парами хромосом. В основном используются для регистрации анеуплоидии как в метафазах, так и, главным образом, в интерфазных ядрах, установления половой принадлежности костного мозга при его трансплантации реципиенту противоположного пола, а также для идентификации происхождения маркерных хромосом.

2б. Субтеломерные (теломерные) зонды — Subtelomere specific (SubTel). Теломеры представляют собой окончания эукариотических хромосом и имеют значение для их защиты, репликации и стабилизации. Они составлены из коротких тандемных повторов ДНК и высококонсервативны: у всех позвоночных это одна и та же простая последовательность (TTAGGG)_n. Теломеры играют важную роль в старении клеток и их раковом перерождении. Продвинутое системы идентификации позволяют количественно оценивать флуоресцентный сигнал от них.

3. Локус-специфические зонды — Locus Specific Identifier (LSI). Данные пробы специфичны для определенных хромосомных участков, позволяя оценивать наличие или отсутствие копий нормальных и патологических генов.

Первичной задачей в процедуре осуществления различных вариантов FISH-анализа, естественно, является получение самих хромосомоспецифических последовательностей ДНК, что может быть сделано с помощью различных технологий [18, 24, 27, 28]. Во многих FISH-исследованиях, когда известна изучаемая последовательность (локус-специфические зонды), используется клонированная ДНК. Такой подход часто применяют отдельные лаборатории для создания собственных (оригинальных) ДНК-зондов. При производстве коммерческих препаратов обычно используется менее трудоемкая проточная цитофлуориметрия в комбинации с сортером, что дает возможность выделять индивидуальные хромосомы из их метафазной смеси. При работе данного комплекса приборов происходит идентификация окрашенной флуорохромами (Hoechst 33258, хромомиицин А3) хромосомы по уровню ее свечения, вызванному облучением лазерами, и направлению электрически заряженной микрокапли, в которой она находится, по заданной траектории в соответствующий приемник. Такой метод изоляции индивидуальных хромосом

оказался очень эффективным и производительным. Для перевода выделенной ДНК отдельных хромосом во фрагменты длиной от 200 до нескольких тысяч пар оснований используются определенные рестриктазы. К полученным фрагментам ДНК («сбоку» — фланкирование) присоединяют универсальный праймер — синтетические олигонуклеотиды, комплементарные определенным консервативным последовательностям ДНК, — с последующей амплификацией полученного материала в стандартной полимеразной цепной реакции (ПЦР). Такой метод дает возможность полногеномной амплификации ДНК даже при использовании одной клетки, хотя выделение и обработка ДНК в нанолитровых объемах вызывали определенные трудности. Имеются различные варианты этого в целом общего подхода.

Другим способом получения хромосомоспецифичной ДНК для генерирования локус-специфических и цельнохромосомных проб является микроманипуляционная микродиссекционная техника, которая устраняет необходимость проточно-флуориметрической сортировки и клонирования. Она осуществляется или при посредстве лазера, или путем «соскабливания» с помощью стеклянной микропетли отдельных хромосом либо их частей. Затем так же осуществляется соответствующая амплификация генетического материала. В настоящее время этот способ обычно используется при производстве коммерческих ДНК-зондов, например в фирме «МетаСистемс» (Германия) [27].

При производстве цельнохромосомных зондов имеется одна особенность, обусловленная наличием в различных хромосомах одинаковых повторяющихся последовательностей ДНК, составляющих до 20% всего генома [29]. При этом так называемые альфа-сателлиты, составляя 3–5% ДНК в каждой хромосоме, формируют основную массу ДНК в прицентромерных регионах. Наличие таких общих для разных хромосом участков ДНК может привести к неспецифическому связыванию зондов с несколькими хромосомами. Поэтому возникает задача элиминации сигнала от этих повторов. Для этого возможно использование двух следующих методов:

1. Предварительное удаление их из соответствующих проб ДНК (коммерческие препараты, например, «МетаСистемс»).

2. Предотвращение их гибридизации с исследуемыми ДНК хромосом, что достигается предварительным (до гибридизации) отжигом меченых зондов ДНК с 50–100-кратным избытком немеченой, так называемой Cot1 ДНК человека, представляющей собой ее высокоповторяющуюся фракцию. Таким образом, основное количество меченой повторяющейся ДНК переводится в двухнитчатую форму, что предотвращает ее гибридизацию с ДНК хромосом на цитологическом или гистологическом препарате. В принципе Cot1 ДНК так же коммерчески доступна, как и ДНК-зонды. Такой подход с супрессией гибридизации диспергированных повторов получил свое собственное название: *Chromosomal In Situ Suppression hybridization* (CISS-гибридизация) [27].

В качестве флуорохромов есть возможность использовать значительное число веществ: флуоресцеинизотиоционат (FITC), родамин, аминотетракарбин АМСА, цианиновые красители (Cy²; Cy³.5; Cy5; Cy5.5; Cy7) и многие другие [27].

Отдельной проблемой является присоединение к фрагментам ДНК этих флуоресцирующих молекул, что, собственно, и позволяет выявить их под флуо-

ресцентным микроскопом. Имеются две основные технологии: не прямое и прямое мечение. При не прямом мечении пробы ДНК соединяются с репортёрными молекулами, что достигается синтезом комплементарных участков нити ДНК в присутствии нуклеотидов, связанных с этими химическими структурами. Наиболее употребляемые репортёрные молекулы: витамин биотин, дигоксигенин, эстроген и динитрофенил [28]. После гибридизации пробы, меченные непрямым методом, выявляются связыванием со специфическими антителами, несущими молекулы флуоресцентной краски, или, как в случае с биотином, с флуоресцентно мечеными авидином и стрептоавидином. Первый является белком, выделенным из куриных яиц, а последний его бактериальным аналогом [24]. Оба обладают особым специфическим родством к авидину. Наибольший недостаток непрямого мечения — большая трудоемкость после гибридизации. Однако главное преимущество заключается в усилении сигнала в связи с наличием нескольких флуорохромов на репортёрной молекуле, что особенно важно для небольших проб (несколько тысяч пар нуклеотидов). В случае прямого мечения флуоресцентные молекулы прямо ковалентно связываются с нуклеотидами ДНК. Этот подход имеет большее применение, так как является более простой и удобной процедурой и после гибридизации требует только отмывания оставшегося несвязанного меченого зонда.

Для введения в ДНК-зонд непрямо и прямо связанных с флуорохромами нуклеотидов используют в основном три способа, основанных на способности ДНК-полимераз синтезировать комплементарную одноцепочечной матрице полинуклеотидную цепочку с использованием 3'-гидроксильного конца спаренного фрагмента ДНК в качестве затравки [30]. К таким способам относятся удлинение затравки, ПЦР и никтрансляция [24, 29].

Аберрации хромосом, идентифицируемые с помощью FISH-метода. Для описания FISH-регистрируемых хромосомных аберраций независимо друг от друга разработаны две номенклатурные системы [31, 32].

Система «Protocol for Aberration Identification and Nomenclature Terminology» (PAINT) разработана для чисто описательного представления каждого аномального FISH-окрашенного объекта в метафазе индивидуально, без какой либо связи с другими аберрантными структурами в клетке [32]. Каждый цвет обозначается буквой (в алфавитном порядке) с контрастирующей окраской. Заглавная буква обозначает компонент, который несет центромеру. Таким образом, при одноцветном окрашивании t (Ab) представляет собой двухцветный объект, состоящий из центромерного куса контр-окрашенной хромосомы и безцентромерного куса FISH-окрашенной хромосомы. И наоборот, t (Ba) является объектом, где центромера находится на FISH-окрашенном компоненте. Для обозначения инсерции (вставки) и кольца (центрического или ацентрического) используются сокращения «ins» и «r» соответственно. Более полное описание всех аббревиатур, используемых в данной системе, приведено в работе [32]. При мультицветной окраске (например, трехцветный FISH) номенклатурное описание достигается путем включения дополнительных букв.

Savage и Simpson [31] предложили другую номенклатуру с уникальными буквенно-цифровыми кодами для каждого обмена во всей его полноте. Цифры от-

носятся к числу объектов, содержащих окрашенный материал, а алфавитный порядок букв отражает предполагаемую перестройку как целое. Эта так называемая система S&S менее представительна в визуальном плане, но имеет значительное применение в исследованиях механизмов образования аберраций, в частности, например, в понимании возникновения сложных перестроек.

Может применяться и более традиционная терминология с обозначением транслокаций как реципрокных (полных, двухсторонних), терминальных (нереципрокных, неполных или односторонних) или интерстициальных [2]. К последним относятся инверсии и вставки. Противоположные понятия «полная — неполная» или «реципрокная — терминальная» связаны с концепциями механизмов образования транслокаций. Аберрации считаются завершенными (полными), когда все отломанные куски воссоединились (хотя бы и неправильно), и неполными, когда один или несколько участков остаются невоссоединенными. Поэтому в рекомендациях МАГАТЭ [2] считается, что для целей биологической дозиметрии исключительно на основе их внешнего вида, по-видимому, лучше называть транслокации двух- или односторонними без каких-либо теоретических выводов о механизмах их возникновения. На самом деле видимая «односторонность» транслокации не обеспечивает надежную оценку неполноты обмена [2]. Определение нерцеципрокности транслокации предполагает, что перенос материала произошел только от одной хромосомы к другой, т.е. однонаправлено. Ко второй же хромосоме никакой дополнительный материал не присоединился. Такая возможность действительно предполагается. Однако ситуация может быть и другой: цитологически видимая неполная транслокация может оказаться полной на молекулярном уровне, так как один из переносимых сегментов может быть слишком мал для визуализации под микроскопом [33]. В работе [34] граница разрешения современной FISH-технологии полагается равной $11\text{--}15 \times 10^6$ н.п. В статье [35] с помощью мечения теломер облученных хромосом показано, что многие представлявшие нерцеципрокными на молекулярном уровне транслокации были на самом деле реципрокными, а частота неполных обменов была очень низкой.

Описанные номенклатуры не являются взаимоисключающими и в принципе дополняют друг друга. В то же время, по мнению авторов статьи [36], несколько модифицированная для учета основных механизмов формирования аберраций терминология PAINT имеет большее количество преимуществ для практического применения.

В течение многих лет хромосомные обмены, включая транслокации, рассматривались как результат взаимодействия только двух хромосом [33]. Однако в последнее время показано, что сложные аберрации, при образовании которых происходят три или более разрывов в двух или более хромосомах [2], оказались достаточно распространенными. Частота их появления и сложность увеличиваются с дозой, особенно при ее уровнях больше 2 Гр [37], но и при дозах меньше 1 Гр и даже в необлученных контролях они могут встречаться. Сложные обмены (инсерции, инверсии) имеют практическим следствием усложнение биологической индикации дозы. То, что выглядело довольно простым процессом подсчета дицентриков или транслокаций, стало гораздо более сложным, так как исследователи столкнулись с важ-

ностью трактовки трехсторонних и более высокого уровня обменов по отношению к двухсторонним обменам. К счастью, при низких дозах доля всех сложных обменов сравнительно невелика, но, как правило, все-таки не достаточно низка, чтобы полностью их игнорировать [33].

Такие обменные аберрации хромосом, как $t(Ab)+t(Ba)$ (полная транслокация), рассматриваются в качестве «видимо» простых аберраций, поскольку они могут являться результатом неопределяемых при одноцветном FISH-окрашивании сложных аберраций, которые обнаруживаются только при использовании метода многоцветного mFISH-метода [38, 39].

Принципы построения дозовых кривых для FISH-регистрируемых транслокаций хромосом. Исходным принципом получения кривых «доза — эффект» для радиационно индуцированных частот транслокаций, регистрируемых FISH-методом, является ее построение с помощью регрессионных методов по результатам облучения полученной путем венопункции крови здоровых доноров, как это делалось для уровней дицентриков при использовании классического метода окраски хромосомом. В основе такого подхода является давно установленная одинаковая радиочувствительность хромосом лимфоцитов после воздействия на них ионизирующих излучений *in vivo* и *in vitro* [см. 1, 2].

В настоящее время для ретроспективной оценки дозы с помощью одноцветного FISH-метода обычно используют три пары больших хромосом (от 1 до 12), которые в целом представляют примерно 20% ДНК всего генома. Относительное содержание ДНК в каждой паре хромосом для мужского и женского полов рассчитано Morton [40]. Например, различные лаборатории, входящие в проект реализации европейской сети по биодозиметрии, использовали следующие наборы трех пар FISH-окрашенных хромосом: 1, 2 и 3-я; 1, 2 и 4-я; 1, 4 и 11-я; 1, 4 и 12-я; 2, 3 и 5-я; 2, 4 и 8-я и 2, 4 и 12-я [41]. Для сравнения результатов, получаемых с помощью разных наборов ДНК-зондов, производят пересчет обнаруженных частот транслокаций на весь геном с помощью специальных формул, учитывающих относительное содержание ДНК в соответствующих хромосомах и то, является ли используемый FISH-метод одноцветным, двуцветным или трехцветным [см. 2].

На основании цитогенетического анализа препаратов, окрашенных классическим методом и с помощью G-бэндинга, выдвинуто также положение, что дицентрики и реципрокные транслокации при действии ионизирующей радиации индуцируются с одинаковой частотой, т.е. при образовании двух разрывов в разных хромосомах образование асимметричного и симметричного обменов является равновероятным [42]. Однако в работе [43] после рентгеновского облучения *in vitro* (0,25–4 Гр) геномная частота транслокаций в культурах лимфоцитов периферической крови двух доноров-женщин при использовании двух разных FISH-окрашенных наборов хромосом (1-й, 3-й, X и 2-й, 4-й, 8-й) была практически одинакова (хотя следует отметить низкое число проанализированных клеток), но в обоих случаях больше, чем частота дицентриков после классической окраски хромосомом. Аналогичные результаты получены и в более ранней работе, которая может быть названа пионерской в области использования цельнохромосомных ДНК-зондов для биологической индикации дозы [44]. Объяснение этому эффекту предложено двумя авторами из последней упомянутой статьи в работе [45].

В ней они, наряду с FISH-окрашиванием трех хромосом (1-й, 2-й и 4-й), использовали панцентромерные пробы с другим присоединенным флуорохромом (окрашенные хромосомы и все центромеры соответственно флуоресцировали в желтой и голубой частях спектра, контр-окраска имела красный цвет). Перестройка хромосом фиксировалась по образованию двуцветных желто-красных структур. Если при этом в каждой такой структуре наблюдалась окрашенная голубым центромера, то она трактовалась как реципрокная транслокация. В дицентриках наблюдалось по две центромеры, а в ацентрических фрагментах — ни одной. При таком способе цитогенетического исследования (после вычета фоновых значений) радиационно индуцированные частоты реципрокных транслокаций и дицентриков оказались очень схожими. Сделан вывод об ошибочной идентификации дицентриков в качестве транслокаций без использования центромерных проб.

Другое объяснение [42] обнаружения более высокой частоты транслокаций состояло в том, что авторы работы [43] при FISH-анализе учитывали все транслокации (реципрокные, терминальные и интерстициальные). Действительно, в статье [46], в которой использовались как цельнохромосомные, так и «центромерные» ДНК-пробы, частота всех FISH-идентифицированных транслокаций суммарно была выше частоты FISH-идентифицированных дицентриков в 1,8 и 1,2 раза при дозах 0,5 и 6,0 Гр соответственно.

В связи с изложенным возникает вопрос о действительной обязательности использования α -сателлитных «центромерных» проб при ретроспективной оценке доз с помощью хотя бы и одноцветного FISH-метода, так как это, естественно, приводит к удорожанию процедуры. Определенные сомнения в такой железной необходимости возникают при озоначении с данными исследования [47], в котором показано отсутствие различий между кривыми «доза — эффект» в диапазоне 0,1–5,0 Гр гамма-излучения ^{60}Co , построенными для дицентриков, регистрируемых с помощью классического и панцентромерного FISH-методов. Tucker J.D. с соавт. [48] предложили принимать в расчет метафазные клетки, которые имеют хороший разброс хромосом, хорошую окраску хромосом без механических повреждений поверхности препарата, 6 центромер среди трех пар окрашенных хромосом и ясно видимые центромеры при использовании фильтра для контрокраски. В работе [49] при FISH-исследовании допускается определение позиции центромер как с использованием фильтра для контр-окраски, так и с помощью центромерных ДНК-проб. Более того, в статье [50] вообще высказывается мнение, что классическая идентификация центромеры по месту первичной перетяжки более надежна, чем использование панцентромерных ДНК-проб, так как на самом деле они в действительности метят не саму центромеру, а прицентромерный гетерохроматин. Соответственно, разрыв в этой области может приводить к неправильной классификации транслокаций и дицентриков. При этом сами гетерохроматиновые районы варьируются по размерам как между хромосомами, так и между индивидуумами. Поэтому авторы предлагают вообще не использовать панцентромерные пробы ДНК. С нашей точки зрения, это решение еще в большей степени будет верным в случаях работы с многоцветными вариантами FISH-окрашивания.

Наблюдаемая при подсчете транслокаций межлабораторная вариабельность может иметь своим

источником различия в счетных критериях, касающихся как отбора метафаз для анализа, так и выбора аберраций для ретроспективной оценки дозы. При этом накопленный опыт показывает, что для надежной оценки дозы в отдаленные сроки после облучения требуется 300–1000 полногеномных клеток, т.е. необходимо проанализировать примерно 1000–3000 метафаз с FISH-окрашенными тремя парами крупных хромосом. Поэтому для более быстрого счета имеет смысл ограничиться визуальной оценкой того, чтобы в метафазе имелось около 46 хромосом, а затем продолжить анализ [15, 51]. Некоторые лаборатории включают в расчет также клетки с укороченными окрашенными хромосомами, следя только за тем, чтобы присутствовали все их центромеры. В других лабораториях делетированный фрагмент обязательно должен иметься в виде отдельного объекта (парный фрагмент) или быть прикрепленным к другой хромосоме (транслокация). Как показано, наличие клеток с дефицитом окрашенного материала приводит к аномально высокому уровню транслокаций, особенно когда рассматриваются частоты, близкие к фоновым значениям [52, 53].

При построении калибровочных кривых для индуцированных радиацией *in vitro* транслокаций производится анализ всех метафазных клеток. Поэтому происходит учет этого вида аберраций хромосом как в стабильных (т.е. содержащих только их), так и в нестабильных клетках. В последних вместе с транслокациями содержатся нестабильные перестройки (дицентрики и другие полицентрики, центрические и ацентрические кольца, парные фрагменты). В приводившихся статьях [11, 12] говорилось о значительно более низкой геномной частоте транслокаций в отдаленные сроки после облучения по сравнению с исходной частотой дицентриков при дозах больше 0,8–2 Гр. Возможным объяснением этого наблюдения может быть именно совместное нахождение нестабильных аберраций и транслокаций в одних и тех же клетках сразу после облучения. Соответственно, их элиминация с течением времени также происходит вместе, когда эти в целом нестабильные клетки гибнут и замещаются неабберрантными или стабильными клетками. Поэтому был сделан вывод о необходимости при построении калибровочных кривых подсчета транслокаций только в стабильных клетках [15, 51]. Следовательно, то же самое требуется делать и при реальной ретроспективной оценке дозы. В противном случае будет наблюдаться ее занижение.

Следует отметить, что в определенных работах [11, 12] в ближайшие сроки после облучения цитогенетические исследования выполнены только с помощью классической окраски. Иными словами, сведения об исходных частотах FISH-регистрируемых транслокаций отсутствовали. По-другому обстояло дело при наблюдении за последствиями радиационного инцидента, произошедшего в октябре 1994 г. в Эстонии в связи с несанкционированным выносом отработанного источника ^{137}Cs из хранилища [54]. Всего анализы аберраций хромосом (классический и FISH) проведены у 18 вовлеченных лиц. У трех пострадавших с наибольшими оцененными дозами неравномерного протрагированного воздействия (приблизительно 1 Гр у двух и 3 Гр у третьего индивидуума) повторные цитогенетические исследования удалось выполнить в течение семи лет [55]. В результате показано, что при анализе всех клеток частоты всех транслокаций снизились примерно до 70% от первоначальных значений в течение первых двух

лет, а затем оставались примерно на одном уровне, причем скорость снижения числа односторонних транслокаций была больше, чем двусторонних. Однако ревизия проведенных исследований показала, что при анализе только стабильных клеток частота регистрируемых транслокаций оставалась примерно на одном уровне по отношению к исходным исследованиям, тогда как частота нестабильных аберраций существенно снизилась за первые два года наблюдения. Следовательно, подтвержден сделанный вывод о том, что снижение выхода транслокаций с течением времени после облучения обусловлено их частичным нахождением в нестабильных клетках. При этом большая доля односторонних транслокаций была локализована именно в них. Таким образом, для ретроспективной оценки дозы предлагается анализировать только стабильные клетки и учитывать все FISH-окрашенные транслокации, которые не выглядят явно deletированными.

Одной из проблем при ретроспективной оценке дозы с помощью FISH-метода является возможное клонообразование клеточных линий, несущих транслокации [33, 54]. В статье [33] высказывается положение о стволовых клетках кроветворных клетках как источнике появления клонов. С нашей точки зрения, более правильным является представление о более широкой возможности появления клонов как изначально из стволовых клеток, так и из других клеток-предшественников или в результате иммунологической стимуляции определенной субпопуляции лимфоцитов [54]. В любом случае для ретроспективной оценки дозы, по-видимому, требуется коррекция этого процесса, даже если вклад клон будет статистически незначимым. В этом случае весь клон сводится к его учету как одной клетки. Есть и другая точка зрения, согласно которой в индивидуальном случае так и следует поступать (оценивается величина индивидуального полученного повреждения), однако при расчете средней дозы на некую популяцию, возможно, лучше не вносить изменения в частоту транслокаций, так как вклад любого отдельного клон в величины среднего и среднего квадратичного отклонения будет минимальным. В конце концов, нормальные лимфоциты также имеют клональное происхождение [33]. С этой точки зрения, даже в случае индивидуальной дозовой оценки необходимость учета клональных транслокаций также остается открытой.

В принципе возможно построение калибровочных кривых для FISH-метода *in vivo* тогда, когда имеются хорошо установленные дозы для неких групп или популяций людей [57, 58]. Однако чаще используют кривые «доза — эффект», полученные по результатам острого облучения *in vitro*, при условии анализа транслокаций в стабильных клетках, о чем речь шла ранее. Разными авторами [2, 15, 22, 49, 59–61] показано, что, как и для дицентриков, при облучении в дозах 1 Гр и выше наиболее адекватной моделью описания процесса индукции транслокаций является линейно-квадратичная зависимость. При этом на практике чаще всего требуется оценка доз меньше 1 Гр и/или не при остром, а хроническом радиационном воздействии. В такой ситуации связь частоты аберраций с дозой приобретает линейный характер и требуется ее статистически хорошая оценка.

По мнению авторов работы [49], порог чувствительности FISH-метода для 30-летних людей составляет примерно 0,5 Гр и несколько выше для 60-летних индивидуумов, что обусловлено зависимой от возраста фоновой частотой FISH-транслокаций и

ее высокой межиндивидуальной вариабельность. В другой работе он определяется как 0,3 и 0,5 Гр для лиц моложе и старше 40 лет соответственно [62]. Необходимо заметить, что эти оценки основаны по большей части на некоторых общих рассуждениях, а не на практических данных. Поэтому считаем указанные цифры завышенными и относимся к данному вопросу более оптимистично. Во всяком случае требуются дальнейшие исследования, особенно с использованием трехцветного и многоцветного FISH-методов.

Авторский вклад: написание статьи, утверждение рукописи для публикации — В. Ю. Нугис.

References (Литература)

1. Cytogenetic analysis for radiation dose assessment: A manual. Vienna: IAEA, 2001; 126 p.
2. Cytogenetic dosimetry: applications in preparedness for and response to radiation emergencies. Vienna: IAEA, 2011; 229 p.
3. Awa A. Mutation research at ABCC/RERF: cytogenetic studies of atomic bomb exposed populations. *Mutat Res* 2003; 543 (1): 1–15.
4. Nakano M, Kodama Y, Ohtaki K, et al. Detection of stable chromosome aberrations by FISH in A-bomb survivors: comparison with previous solid Giemsa staining data on the same 230 individuals. *Int J Radiat Biol* 2001; 77 (9): 971–977.
5. Dybskiy SS. FISH method applied to the cytogenetic examination of persons recovered from acute radiation sickness due to the Chernobyl power plant accident. In: *The problems of radiation genetics at the turn of the century: Abstracts*. M.: Publishing House of Russian Peoples' Friendship, 2000; p. 271.
6. Pilinskaya MA. The frequency of chromosome aberrations in critical groups of Ukrainian population in delayed terms following the Chernobyl accident. In: *The problems of radiation genetics at the turn of the century: Abstracts*. M.: Publishing House of Russian Peoples' Friendship, 2000; p. 312.
7. Awa AA. Persistent chromosome aberrations in the somatic cells of A-bomb survivors, Hiroshima and Nagasaki. *J Radiat Res* 1991; 32 (Suppl. 1): 265–274.
8. Sevan'kaev AV, Goloub EV, Khvostunov IK, et al. Retrospective dose estimation in remote period after exposure using different biological methods. *Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya* 2004; 44 (6): 637–652. Russian (Севаньяев А.В., Голуб Е.В., Хвостунов И.К. и др. Ретроспективная оценка доз в отдаленный пострадиационный период разными биологическими методами. *Радиационная биология. Радиоэкология* 2004; 44 (6): 637–652).
9. Chen Y, Jin C-Z, Zhang X-Q, et al. Seventeen-year follow-up study on chromosomal aberrations in five victims accidentally exposed to several Gy of ⁶⁰Co γ-rays. *Radiat Environ Biophys* 2009; 48 (1): 57–65.
10. Simon SL, Bailiff I, Bouville A, et al. BiodosEPR-2006 consensus committee report on biodosimetric methods to evaluate radiation doses at long times after exposure. *Radiat Measurements* 2007; 42 (6-7): 948–971.
11. Sevan'kaev AV, Khvostunov IK, Mikhailova GF, et al. The suitability of FISH chromosome painting and ESR-spectroscopy of tooth enamel assays for retrospective dose reconstruction. *J Radiat Res* 2006; 47 (Suppl. A): A75-A80.
12. Natarajan AT, Santos SJ, Darroudi F, et al. ¹³⁷Cesium-induced chromosome aberrations analysed by fluorescence *in situ* hybridization: Eight years follow up of the Goiânia radiation accident victims. *Mutat Res* 1998; 400 (1): 299–312.
13. Lucas JN, Awa A, Straume T, et al. Rapid translocation frequency analysis in human decades after exposure to ionizing radiation. *Int J Radiat Biol* 1992; 62 (1): 53–63.
14. Ainsbury EA, Bakhanova E, Barquinero JF, et al. Review of retrospective dosimetry techniques for external ionising radiation. *Radiat Prot Dosim* 2011; 147 (4): 573–592.
15. Edwards AA, Lindholm C, Darroudi F, et al. Review of translocations detected by FISH for retrospective biological dosimetry application. *Radiat Prot Dosim* 2005; 113 (4): 396–402.
16. Knehr S, Bauchinger M. Application of FISH painting for dose reconstruction: current status and views of the GSF cytogenetics group. *Radiat Prot Dosim* 2000; 88 (1): 15–20.
17. Rodriguez P, Montoro A, Barquinero JF, et al. Analysis of translocations in stable cells and their implications in

- retrospective biological dosimetry. *Radiat Prot Dosim* 2000; 88 (1): 15–20.
18. Swiger RR, Tucker JD. Fluorescence in situ hybridization: A brief review. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 1996; 27 (4): 245–254.
19. Karseladzej AI. Reaction of fluorescence in situ hybridization (FISH-reaction) in the diagnosis of cancer. *Arkhiv Patologii* 2009; Application: 40. Russian (Карселадзе А.И. Реакция флюоресцентной in situ гибридизации (FISH-реакция) в диагностике онкологических заболеваний. *Архив патологии* 2009; Приложение: 40).
20. Nikonenko TA. Methods of molecular genetic diagnosis today. *Laboratornaja meditsina* 2008; (9): 27–30. Russian (Никоненко Т.А. Методы молекулярно-генетической диагностики сегодня. *Лабораторная медицина* 2008; (9): 27–30).
21. Landegent JE, In De Wal JN, Baan RA, et al. 2-Acetylaminofluorene-modified probes for the indirect hybridocytochemical detection of specific nucleic acid sequences. *Exp Cell Res* 1984; 153 (1): 61–72.
22. Landegent JE, In De Wal JN, van Omment G-JB, et al. Chromosomal localization of a unique gene by non-autoradiographic in situ hybridization. *Nature* 1985; 317 (6033): 175–177.
23. Pinkel D, Straume T, Gray JW. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. *Proc Natl Acad Sci* 1986; 83 (9): 2934–2938.
24. Dymshits GM. Non-radioactively labeled oligo- and polynucleotide probes: tool for studying genome structure and diagnostics. *Soros Educational Journal* 2011; (9): 30–37. Russian (Дымшиц Г.М. Нерадиоактивно меченные олиго- и полинуклеотидные зонды — инструмент изучения структуры генома и диагностики. *Соросовский образовательный журнал* 2011; (9): 30–37).
25. Kuleshov NP, Mutovin GR, Barceva OB, Ataeva JM. Molecular-cytogenetic methods in diagnosis of chromosomal diseases. *Medical Scientific and Educational-Methodical Journal* 2007; (37): 66–85. Russian (Кулешов Н.П., Мутовин Г.Р., Барцева О.Б., Атаева Дж.М. Молекулярно-цитогенетические методы в диагностике хромосомных болезней. *Медицинский научный и учебно-методический журнал* 2007; (37): 66–85).
26. Trask BJ. Human cytogenetics: 46 chromosomes, 46 years and counting. *Nature Reviews Genetics* 2002; 3 (10): 769–778.
27. Rubtsov NB. Hybridization of nucleic acids in situ in the analysis of chromosomal abnormalities. In: *Molecular-genetic methods in diagnostics of hereditary diseases and cancer. Introduction to molecular diagnostics*. Moscow: *Meditsina*, 2011; Vol. 2, p. 100–136. Russian (Рубцов Н.Б. Гибридизация нуклеиновых кислот in situ в анализе хромосомных аномалий. В кн.: *Молекулярно-генетические методы в диагностике наследственных и онкологических заболеваний: Введение в молекулярную диагностику*. М.: Медицина, 2011; т. 2, с. 100–136).
28. Chudova I. Fluorescence in situ hybridization. In: *Chromosomal alterations: methods, results and importance in human's health*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag, 2007; p. 285–299.
29. Vorsanova SG, Yurov YB, Chernishov VN. *Medical cytogenetics (study guide)*. Moscow: ID *Medpraktika-M*, 2006; 300 p. Russian (Ворсанова С. Г., Юров Ю. Б., Чернышов В. Н. *Медицинская цитогенетика (учеб. пособие)*. М.: ИД *Медпрактика-М*, 2006; 300 с.).
30. Favorova OO. The preservation of DNA in several generations: DNA replication. *Soros Educational Journal* 1996; (2): 21–27. Russian (Фаворова О.О. Сохранение ДНК в ряду поколений: репликация ДНК. *Соросовский образовательный журнал* 1996; (2): 21–27).
31. Savage JRK, Simpson P. On the scoring of FISH-“painting” chromosome-type exchange aberrations. *Mutat Res* 1994; 307 (1): 345–353.
32. Tucker JD, Morgan WF, Awa AA, et al. A proposed system for scoring structural aberrations detected by chromosome painting. *Cytogenet Cell Genet* 1995; 68 (3–4): 211–221.
33. Tucker JD. Low-dose ionizing radiation and chromosome translocations: A review of the major considerations for human biological dosimetry. *Mutat Res/Reviews in Mutation Research* 2008; 659 (3): 211–220.
34. Kodama Y, Nakano M, Ohtaki K, et al. Estimation of minimal size of translocated chromosome segments detectable by fluorescence in situ hybridization. *Int J Radiat Biol* 1997; 71 (1): 35–39.
35. Boei JJWA, Natarajan AT. Combined use of a chromosome painting and telomere detection to analyse radiation-induced chromosomal aberrations. *Int J Radiat Biol* 1998; 73 (2): 125–133.
36. Knehr S, Zitzelsberger H, Bauchinger M. FISH-based analysis of radiation-induced chromosomal aberrations using different nomenclature systems. *Int J Radiat Biol* 1998; 73 (2): 135–141.
37. Tucker JD, Ramsey MJ, Lee DA, Minkler JL. Validation of chromosome painting as a biodosimeter in human peripheral blood lymphocytes following acute exposure to ionizing radiation in vitro. *Int J Radiat Biol* 1993; 64 (1): 127–137.
38. Cornforth MN. Analyzing radiation-induced complex chromosome rearrangements by combinatorial painting. *Radiat Res* 2001; 155 (5): 643–659.
39. Simpson PJ, Papworth DG, Savage JRK. X-ray-induced simple, pseudosimple and complex exchanges involving two distinctly painted chromosomes. *Int J Radiat Biol* 1999; 75 (1): 11–18.
40. Morton NE. Parameters of the human genome. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88 (1): 7474–7476.
41. Barquinero JF, Beinke C, Borrás M, et al. RENE biosimetry intercomparison analyzing translocations by FISH. *Int J Radiat Biol* 2016; 6 p. doi 10.1080/09553002.2016.1222092.
42. Natarajan AT, Balajee AS, Boei JJWA, et al. Mechanisms of induction of chromosomal aberrations and their detection by fluorescence in situ hybridization. *Mutat Res* 1996; 1996 (2): 247–258.
43. Natarajan AT, Vyas RC, Darroudi F, Vermeulen S. Frequencies of X-ray-induced chromosome translocations in human peripheral lymphocytes as detected by in situ hybridization using chromosome-specific DNA libraries. *Int J Radiat Biol* 1992; 61 (2): 11–18.
44. Lucas J, Tenjin T, Straume T, et al. Rapid determination of human chromosome translocation frequency using a pair of chromosome-specific DNA probes. *Int J Radiat Biol* 1989; 56 (1): 35–44.
45. Straume T, Lucas JN. A comparison of the yields of translocations and dicentric chromosomes measured using fluorescence in situ hybridization. *Int J Radiat Biol* 1993; 64 (2): 185–187.
46. Bauchinger M, Schmid E, Zitzelsberger H, et al. Radiation-induced chromosome aberrations analysed by two-colour fluorescence in situ hybridization with composite whole chromosome-specific DNA probes and a pancentromeric DNA probe. *Int J Radiat Biol* 1993; 64 (2): 179–184.
47. Roy L, Sorokine-Durm I, Voisin P. Comparison between fluorescence in situ hybridization and conventional cytogenetics for dicentric scoring: a first-step validation for the use of FISH in biological dosimetry. *Int J Radiat Biol* 1996; 70 (6): 665–669.
48. Tucker JD, Lee DA, Moore II DH. Validation of chromosome painting. II: A detailed analysis of aberrations following high doses of ionizing radiation in vitro. *Int J Radiat Biol* 1995; 67 (1): 19–28.
49. Sorokine-Durm I, Durand V, Delbos M, et al. A french view on FISH painting as a biodosimeter. *Radiat Prot Dosim* 2000; 88 (1): 35–44.
50. Tucker JD. Evaluation of chromosome translocations by FISH for radiation dosimetry: a view from one laboratory. *Radiat Prot Dosim* 2000; 88 (1): 87–92.
51. Edwards AA, Lloyd DC, Szuinska M. Retrospective biological dosimetry by FISH. In: *Chromosomal alterations: Methods, results and importance in human health*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2007; p. 371–380.
52. Edwards AA, Maznik N, Moquet J, et al. Choosing metaphases for biological dosimetry by fluorescence in situ hybridization (FISH). *Radiat Res* 2002; 157 (4): 469–471.
53. Lloyd DC, Lucas JN, Edwards AA, et al. A study to verify a reported excess of chromosomal aberrations of Namibian uranium miners. *Radiat Res* 2001; 155 (6): 809–817.
54. Lingholm G, Tekkel M, Veidebaum T, et al. Persistence of translocations after accident exposure to ionizing radiation. *Int J Radiat Biol* 1998; 74 (5): 565–571.
55. Lingholm G, Edwards A. Long-term persistence of translocations in stable lymphocytes from victims of a radiological accident. *Int J Radiat Biol* 2004; 80 (8): 559–566.
56. Salassidis K, Georgiadou-Schumacher V, Braselmann H, et al. Chromosome painting in highly irradiated Chernobyl

victims: a follow-up study to evaluate the stability of symmetrical translocations and the influence of clonal aberrations for retrospective dose estimation. *Int J Radiat Biol* 1995; 68 (3): 257–262.

57. Lindholm C. Stable and unstable chromosomal aberrations among finnish nuclear power plant workers. *Radiat Prot Dosim* 2001; 93 (2): 143–150.

58. Tawn EJ, Whitehouse CA, Tarone RE, et al. FISH chromosome aberration analysis on retired radiation workers from the Sellafield Nuclear Facility. *Radiat Res* 2004; 162 (3): 249–256.

59. Lucas JN, Deng W. Views on issues in radiation biodosimetry based on chromosome translocations measured by FISH. *Radiat Prot Dosim* 2000; 88 (1): 77–86.

60. Savage JRK, Papworth DG, Bauchinger M, et al. Constructing a 2b calibration curve for retrospective dose reconstruction. *Radiat Prot Dosim* 2000; 88 (1): 69–76.

61. Stronati L, Durante M, Gensabella G, et al. Calibration curves for biological dosimetry by fluorescence in situ hybridization. *Radiat Prot Dosim* 2001; 94 (4): 335–345.

62. Pressl S, Romm H, Ganguly BB, Stephan G. Experience with FISH-detected translocations as an indicator in retrospective dose reconstruction. *Radiat Prot Dosim* 2000; 88 (1): 45–49.

УДК 617.741–004.1–053.9

Оригинальная статья

РИСК РАЗВИТИЯ КАТАРАКТЫ В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО И ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ

А. Р. Туков — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, врач-хирург отделения рентгенохирургических методов диагностики и лечения, заведующий лабораторией, кандидат медицинских наук; **И. Л. Шафранский** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, врач-хирург отделения рентгенохирургических методов диагностики и лечения, старший научный сотрудник, кандидат медицинских наук; **Н. В. Капитонова** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, врач-хирург отделения рентгенохирургических методов диагностики и лечения, старший научный сотрудник; **О. Н. Прохорова** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, инженер-исследователь; **А. С. Самойлов** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна» ФМБА России, генеральный директор, доцент, доктор медицинских наук.

RISK OF CATARACT IN THE CONTEXT OF ACUTE AND CHRONIC EXPOSURE

A. R. Tukov — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan of Federal Medical Biological Agency, Head of the Laboratory, Department of an Interventional Radiology, Surgeon, Candidate of Medical Sciences; **I. L. Shafransky** — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan of Federal Medical Biological Agency, Department of an Interventional Radiology, Surgeon, Senior Researcher, Candidate of Medical Sciences; **N. V. Kapitonova** — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan of Federal Medical Biological Agency, Department of an Interventional Radiology, Surgeon, Senior Researcher; **O. N. Prokhorova** — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan of Federal Medical Biological Agency, Department of an Interventional Radiology, Engineer Researcher; **A. S. Samoilov** — Federal Medical and Biophysical Center n.a. A. I. Burnazyan, General Director, Assistant Professor, Doctor of Medical Science.

Дата поступления — 22.11.2016 г.

Дата принятия в печать — 08.12.2016 г.

Туков А. Р., Шафранский И. Л., Капитонова Н. В., Прохорова О. Н., Самойлов А. С. Риск развития катаракты в условиях острого и хронического облучения. *Саратовский научно-медицинский журнал* 2016; 12 (4): 678–684.

Цель: оценка риска заболевания катарактой при использовании доз различных видов воздействия ионизирующего излучения на человека. **Материал и методы.** Исследование проведено с использованием информационной базы данных работников АЭС, принимавших участие в ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС. Для расчета риска использованы дозы профессионального облучения и дозы, полученные при работе в 30-километровой зоне ЧАЭС. **Результаты.** В исследовании показано, что использование доз различных видов воздействия ионизирующего излучения на человека приводит к получению различных уровней риска заболевания катарактой. Небольшой избыточный относительный риск на 1 Зв позволяет с осторожностью говорить о фиксировании радиационных катаракт в старческих катарактах. **Заключение.** Только использование суммарной дозы от различных видов воздействия ионизирующего излучения может привести к получению корректных результатов оценки риска возникновения радиационно-индуцированных заболеваний.

Ключевые слова: риск катаракты, дозы различных видов облучения, суммарная доза.

Tukov AR, Shafransky IL, Kapitonova NV, Prokhorova ON, Samoilov AS. Risk of cataract in the context of acute and chronic exposure. *Saratov Journal of Medical Scientific Research* 2016; 12 (4): 678–684.

Purpose: estimation of the risk of cataract using doses of different types of radiation. **Material and methods.** The study is carried out using the information database of the NP, recovery workers of the accident at the Chernobyl NP. Professional exposure and dose received during 30 km zone were used to calculate the risk. **Results.** The study shows the use of one of their parts of the total radiation dose of man, leads to obtaining of different levels of the risk of disease. **Conclusion.** Only use of a total radiation dose can lead to obtaining of the correct results of evaluating the risk of the emergence of the radiation-induced diseases.

Key words: risk of cataract, doses of different types of radiation, the total dose.

Введение. Катаракта — помутнение хрусталика глаза, приводящее к снижению остроты зрения вплоть до полной его утраты. Основную массу за-

болевания составляют старческая и приобретенная катаракты. Врожденная катаракта наблюдается в 5 случаях на 100 тыс. новорожденных, она обуславливает от 10 до 38% случаев детской слепоты.

Старческая катаракта — дистрофические процессы в веществе хрусталика. Частота старческой ката-

Ответственный автор — Туков Александр Романович
Тел.: 89104422365
E-mail: atukov40@mail.ru