

РАДИАЦИОННАЯ БИОФИЗИКА

УДК 611.08 + 614.8.028 + 577.34 + 53.086

Г. П. Саркисян¹, Н. С. Багдасарян²

Проблема биодозиметрии лучевых поражений и ее решение методом цифровой обработки микроизображений эритроцитов

(Представлено чл.-кор. НАН РА Э. С. Геворкяном 9/VIII 2019)

Ключевые слова: радиационная катастрофа, лучевое поражение, биодозиметрия, эритроцитометрия.

Аварии на Чернобыльской АЭС (26 апреля 1986 г.) и на АЭС Фукусима-1 (11 марта 2011 г.) показали, что вопросы ранней диагностики лучевого поражения, оценки степени его тяжести, разработки методов оценки эффективности средств и схем спецификаций терапии лучевой болезни, а также прогнозирования ее исхода являются актуальными проблемами современной медицинской и радиационной биофизики [1-10].

Обзорные работы последних лет по разработке методов ранней диагностики лучевого поражения организма свидетельствуют, что в настоящее время не имеется достаточно адекватных, отвечающих современным требованиям решения этой проблемы. Существующие методы биологической индикации лучевого поражения (например, цитогенетические, гематоморфологические, биофизические) трудоемки и дорогостоящи.

С точки зрения практической медицины весьма актуальной проблемой является разработка недорогого экспресс-метода индикации радиационного поражения людей в результате ядерных катастроф (ЯК), например, после аварии в атомной промышленности или после применения ядерного оружия. Следует отметить, что особенно в первые часы-сутки после аварии возникает необходимость оказания первичной медицинской помощи многотысячному пострадавшему контингенту. Это – группирование по степени тяжести поражения, это – прогнозирование исхода острого лучевого поражения, это – определение индивидуальной эффективной схемы для каждого пострадавшего и проведение экстренных противорадиационных лечебно-профилактических мероприятий на ранней стадии после радиационного поражения (РСПП).

Среди методов диагностики тяжести острого лучевого поражения сравнительно близким по поставленной цели можно считать запатентованный в РФ способ (RU №2099709, G01N33/483) [11], авторы которого предложили новый подход к исследованию периферической крови путем одномоментного определения прочности эритроцитарных агрегатов, содержания лейкоцитов и полупериода агрегации эритроцитов, с последующим установлением корреляции между тяжестью острого лучевого поражения и максимальным отклонением величины индекса тяжести лучевого поражения, который рассчитывают по формуле $J = Ud/\tau(L+n)$, где J – индекс тяжести лучевого поражения (отн. ед); Ud – максимальная прочность агрегатов эритроцитов (В); τ – полупериод агрегации эритроцитов (с); L – содержание лейкоцитов (тыс./мкл); n – поправочный коэффициент, n равен 0 при L , не равном нулю, n равен 0.1 при L , равном нулю, и при максимальном отклонении J , зарегистрированном в диапазоне от 0.31 до 3.0, диагностируют легкое лучевое поражение, от 3.1 до 9.0 – среднее, от 9.1 и выше – тяжелое лучевое поражение, а в диапазоне величин J от 0.05 до 0.30 диагностируют норму.

Основные недостатки данного метода – это, во-первых, его трудоемкость и дороговизна; во-вторых, ограниченность применения из-за резкого снижения уровня лейкоцитов и лимфоцитов (вплоть до полного отсутствия) при высоких и средних дозах облучения, которые не позволяют установить тяжесть острого лучевого поражения и прогнозировать его исход. Эти недостатки снижают также чувствительность метода.

Общепринята точка зрения, что в процессе лучевой болезни, вызванной различными дозами облучения, динамика сдвига исследуемого параметра отражает изменение тяжести лучевого поражения организма. Степень тяжести лучевого поражения организма зависит от двух основных факторов: величины дозы облучения и исходного функционального состояния организма. Следовательно, очевидна необходимость разработки нового способа ранней диагностики тяжести острого лучевого поражения, который позволит без больших затрат времени и средств обеспечить индивидуальный подход в достижении поставленной цели. Также очевидна необходимость выбора такого параметра исследования, который поддается измерению на протяжении всей РСПП. С этой точки зрения эритроциты уникальны по их совокупной роли и значимости в биологическом, медицинском и научно-методическом аспектах. В настоящее время всё более актуальным становится изучение популяции эритроцитов как самостоятельного объекта, а также изучение его характеристик в различных средах и условиях, не являющихся для эритроцитов физиологически естественными. Во многом это связано с реализацией фундаментальной идеи использования эритроцита в качестве естественного высокоэффективного биодатчика состояния и патологических изменений в организме человека и животных, а также экологического состояния окружающей среды [1, 4, 6-10].

Весьма эффективным решением проблемы обнаружения лучевых по-

ражений является метод оценки тяжести и прогнозирования исхода острого лучевого поражения путем введения интегрального показателя – величины относительного сдвига (ВОС) среднего радиуса эритроцитов периферической крови (СРЭПК) по сравнению с нормой. В предложенном методе автоматизированную оценку данного показателя осуществляют путем компьютерной обработки цифровой информации микроизображения эритроцитов в тонком слое периферической крови с помощью оптического микроскопа и ПЗС-камеры (прибора с зарядовой связью) на разных стадиях раннего пострadiaционного периода (РПП) [12, 13].

Оценка СРЭПК в тонком слое периферической крови и определение ВОС по сравнению с нормой осуществляется на устройстве, которое состоит из оптического микроскопа, держателя образца крови, ПЗС-камеры для цифровой регистрации микроизображения исследуемого участка тонкого слоя крови и ЭВМ для обработки цифровой информации. Тонкий слой периферической крови готовят по следующей схеме: производят забор крови у исследуемого пациента и разбавляют её 0.9% раствором хлорида натрия в 200 раз. Затем смачивают предметное стекло дистиллированной водой и с помощью микропипетки наносят на него 1 мкл разбавленной крови, ожидают 20 с и закрывают слой покровным стеклом. Далее с помощью оптического микроскопа и ПЗС-камеры проводят цифровую регистрацию микроизображения тонкого слоя микрообъектов – эритроцитов.

Для каждого животного, подвергнутого однократному тотальному облучению определенной дозой, готовят тонкий слой периферической крови в норме (за сутки до облучения) и на разных стадиях РПП – через 24; 48 и 72 ч после облучения.

Демонстрация разработанного метода осуществляется следующим образом. Готовят три группы животных, каждую из которых отдельно подвергают однократному тотальному облучению: в дозе 300 Р (сублетальная доза, при которой в течение 30 суток все животные выживают), в дозе 600 Р (полусмертельная доза для этого вида животного – LD50/30, при которой 50% облученных животных в течение 30 суток выживают, а 50% за этот срок погибают) и в дозе 1000 Р (абсолютно смертельная доза, при которой все облученные животные в течение 7 суток РСРП погибают). Создается банк цифровых данных микроизображений монослоев крови (для каждого животного в количестве 4). Вся полученная информация передается на ЭВМ для цифровой обработки. Дальнейшая работа ведется с цифровым банком данных микроизображений исследуемого участка тонкого слоя крови.

Такая технология приводит к значительному упрощению реализации метода, обеспечивает экспрессную оценку ВОС СРЭПК, повышает производительность труда и достоверность результатов анализа.

На рис. 1 представлен график временной зависимости ВОС СРЭПК (в процентах по сравнению с нормой; норма (Н) – 0%) животных, подверг-

нутых тотальному однократному облучению (приведены данные в норме и через 24; 48 и 72 ч после облучения дозами 300, 600 и 1000 Р).

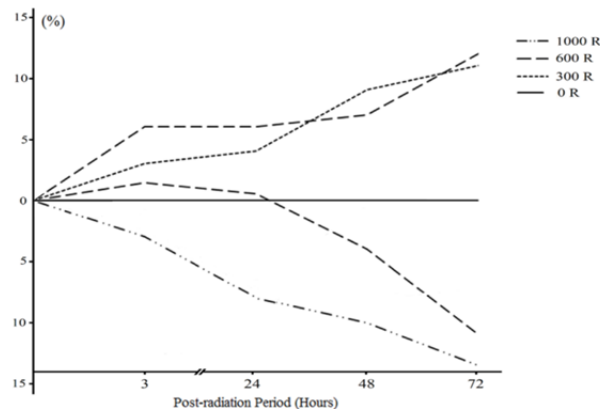


Рис. 1. Изменение ВОС СРЭПК на РПП для разных доз облучения.

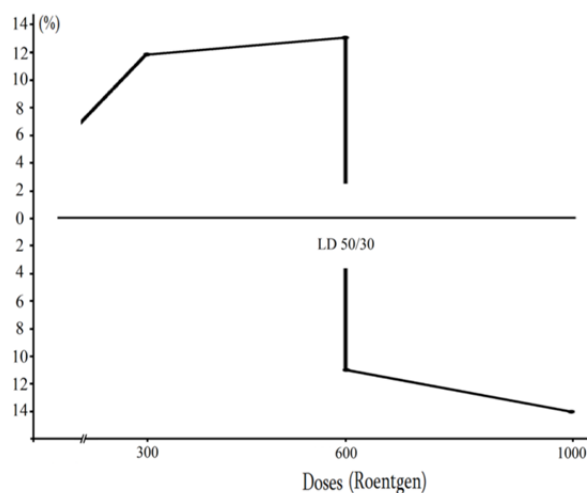


Рис. 2. Зависимость ВОС СРЭПК от дозы (кривая доза-эффект) через 72 ч после облучения.

На рис. 2 представлен график дозовой зависимости ВОС СРЭПК животных (в процентах по сравнению с нормой; норма (Н) – 0%), через **трое суток** после тотального однократного облучения в дозах 300, 600 и 1000 Р.

О тяжести острого лучевого поражения судят по результатам оценки выбранного параметра ВОС СРЭПК по сравнению с нормой – после первых, вторых и третьих суток РПП (см. рис. 1). Прогнозирование исхода острого лучевого поражения для данной дозы делают через **трое суток** после лучевого поражения путем нахождения ВОС СРЭПК из корреляционной кривой (см. рис. 2).

На рис. 1 видно, что для дозы 300 Р на вторые сутки РПП на 6% уве-

личивается ВОС СРЭПК и через трое суток превышает 10%. На основании такого результата можно утверждать, что когда регистрируется увеличение ВОС СРЭПК по сравнению с нормой более чем на 10%, имеет место лучевое поражение средней тяжести и прогнозируется, что животное выживет. В литературе эту дозу называют дозой средней тяжести (или сублетальной дозой).

Для дозы 1000 Р (пунктирная линия с двойными точками на рис. 1) через 24 ч после лучевого поражения ВОС СРЭПК уменьшается на 7%, а через 72 ч уменьшение достигает 14%. Следовательно, если ВОС СРЭПК через 72 ч становится меньше по сравнению с нормой на 14% и более, это соответствует абсолютно смертельной дозе, и можно прогнозировать, что в течение 7 суток животное погибнет.

Как видно на рис. 1, при тотальном облучении полусмертельной дозой 600 Р изменение ВОС СРЭПК проявляет достоверное качественное и количественное различие для погибающих и выживающих подгрупп (пунктирные линии с противоположной динамикой поведения на рис. 1). У выживающей подгруппы имеет место рост ВОС СРЭПК в течение всего РПП и через 24 ч достигает более 7%, через 48 ч – более 8%, а через трое суток превышает 12%. Для погибающей подгруппы достоверное уменьшение ВОС СРЭПК по сравнению с нормой превышает 10% спустя 72 ч после лучевого поражения. Важно заметить, что при дозе облучения 600 Р динамика изменения ВОС СРЭПК в РПП проявляет тенденции аналогично сублетальной (300 Р) и абсолютно смертельной (1000 Р) дозам облучения.

Таким образом, метод цифровой обработки микроизображений эритроцитов позволяет провести достоверное разделение облученных организмов на подгруппы по степени тяжести поражения при одинаковом фоне радиации окружающей среды, особенно когда уровень радиации близок к полусмертельной дозе облучения для данного вида животного. Метод обеспечивает повышение точности прогнозирования исхода острого лучевого поражения в РПП, а также позволяет решить проблемы повышения экспрессности и снижения стоимости биоиндикации лучевых поражений.

¹ Институт химической физики им. А. Н. Нальбандяна НАН РА

² Международный послевузовский медико-биологический учебный центр при МОНКС РА

e.mail: hrachya_sargsyan@mail.ru, arian_serg@yahoo.com

Г. П. Саркисян, Н. С. Багдасарян

Проблема биодозиметрии лучевых поражений и ее решение методом цифровой обработки микроизображений эритроцитов

Представлен метод оценки степени тяжести острого лучевого поражения и прогнозирования его исхода в раннем пострадиационном периоде. С помощью цифровой обработки микроизображений монослоя крови оценивается средний радиус эритроцитов в норме и после первых, вторых и третьих суток раннего

пострадиационного периода. Степень тяжести острого лучевого поражения определяется по величине относительных сдвигов среднего радиуса эритроцитов периферической крови по сравнению с нормой. Прогнозирование исхода острого лучевого поражения делается из корреляционной кривой доза-эффект, построенной после третьих суток раннего пострadiационного периода.

Հ. Պ. Սարգսյան, Ն. Ս. Բաղդասարյան

**Ճառագայթային ախտահարման կենսադոզաչափության հիմնախնդիրը
և նրա լուծումը էրիթրոցիտների միկրոպատկերների թվային
վերամշակման մեթոդով**

Ներկայացված է հետճառագայթային վաղ շրջանում ճառագայթային ախտահարման ծանրության աստիճանի գնահատման և նրա էլքի կանխորոշման մեթոդ: Արյան միաշերտի միկրոպատկերի թվային վերամշակման միջոցով գնահատվում է էրիթրոցիտների շառավղի միջինը նորմայում և հետճառագայթային վաղ շրջանի առաջին, երկրորդ և երրորդ օրերից հետո: Սուր ճառագայթային ախտահարման ծանրության աստիճանը որոշվում է պերիֆերիկ արյան էրիթրոցիտների շառավղի միջինի նորմայի համեմատ հարաբերական շեղման մեծությամբ: Սուր ճառագայթային ախտահարման էլքի կանխատեսումը կատարվում է հետճառագայթային վաղ շրջանի երրորդ օրվանից հետո կառուցված դոզա-էֆեկտ կորելյացիոն կորի միջոցով:

H. P. Sargsyan, N. S. Baghdasaryan

**The Problem of Radiation Injury Biodosimetry and Solving it
by the Method of Digital Processing of Erythrocyte Microimages**

In the current article a method for early diagnosis of severity and prediction of the outcome of acute radiation injury in the early post-radiation period is discussed. By means of digital processing method of erythrocyte micro images the average radius of peripheral blood erythrocytes in norm and after the first, second and third days of the early post-radiation period is estimated. The severity of acute radiation injury is determined by the magnitude of the relative shifts of peripheral blood erythrocytes average radius as compared to the norm. Prediction of the outcome of acute radiation injury is implemented on the bases of collation of the relative shift as compared to the norm for different stages, followed by finding a point on the dose-effect correlation curve three days after radiation injury.

Литература

1. *Гофман Дж.* Чернобыльская авария: радиационные последствия для настоящего и будущих поколений. Минск. Выш. шк. 1994. 574 с.
2. Информация об аварии на Чернобыльской АЭС и её последствиях, подготовленная для МАГАТЭ – Атомная энергия. 1986. Т. 61. Вып. 51. С. 301-320.

3. Авария на АЭС «Фукусима-Дайити» в Японии, начавшейся 11 марта 2011 г. Докл. генеральн. директора на 59-й Генеральной конф. МАГАТЭ. Вена. МАГАТЭ. 2015. 278 с. <https://www.twirpx.com/file/1775975/>.
4. Ильин Б. Н. Реалии и мифы Чернобыля. М. ALARA limited. 1994. 446 с.
5. Lloyd D. C., Edwards A. A. In: Chromosome aberrations: basic and applied aspects, ed. by G. Obe, A.T.Natarajan. Berlin. Springer. 1989. P. 212-223.
6. Durante M. et al. – Int. J. Radial Biol. 1998. V. 74. P. 45 7-462.
7. Hande M. P. et al. – Am. J. Hum. Genet. 2003. .V. 72. P.1162-1170.
8. UNSCEAR Report: Sources and effects of ionizing radiation, Annex G. 2000. P. 73-176.
9. Lucas J. N. et al. – Int. J. Radiat. Biol. 1989. V. 56. P. 35-44.
10. Корнеев Н. А. – Агрохимический вестник. 2001. № 3. С. 2-9.
11. Тухватулин Р. Т., Костеша Н. Я., Аносова Н. В., Новикова Л. К. Способ диагностики тяжести острого лучевого поражения. Патент RU 2 099 709, G01N 33/483, 1997.
12. Квеглис Л. И., Кашкин В. Б. Диссипативные структуры в тонких нанокристаллических пленках. Красноярск. Сибирский федеральный ун-т. 2011. 204 с.
13. Саркисян Г. П., Саркисян А. Г., Багдасарян Н. С. и др. Способ ранней диагностики и прогнозирования исхода острого лучевого поражения. Патент на изобретение РФ. N2513999 от 25.02.2014г.