



УКРАЇНА

(19) UA (11) 67007 (13) U  
(51) МПК (2011.01)  
A61N 5/00ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ПЕРВИННОЇ ПРОФІЛАКТИКИ РАДІОГЕННОГО РАКУ

1

2

(21) u201108963

(22) 18.07.2011

(24) 25.01.2012

(46) 25.01.2012, Бюл.№ 2, 2012 р.

(72) ЧЕХУН ВАСИЛЬ ФЕДОРОВИЧ, ДЬОМІНА  
ЕМІЛІЯ АНАТОЛІЙВНА(73) ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛО-  
ГІЇ, ОНКОЛОГІЇ І РАДІОБІОЛОГІЇ ІМ. Р.Є. КАВЕЦЬ-  
КОГО НАН УКРАЇНИ

(57) Спосіб первинної профілактики радіогенного раку, який **відрізняється** тим, що зниження канцерогенного ризику за умов опромінення в діапазоні малих (надфонових) доз забезпечується шляхом виявлення осіб з радіочутливим генотипом з урахуванням додаткового впливу комутагенів та наступним призначенням нетоксичних ефективних радіопротекторів.

Корисна модель, що заявляється, належить до профілактичної медицини.

Пріоритетним компонентом захисту здоров'я людини є первинна профілактика захворювань [1]. Підвищення рівня онкологічної захворюваності в Україні в значній мірі пов'язане із збільшенням канцерогенного, в тому числі радіаційного, навантаження на населення. Проблема радіогенного раку набуває особливої актуальності та світового масштабу у зв'язку із аваріями на атомних електростанціях Чорнобиля (квітень 1986) та "Фукусима-1", Японія (березень 2011).

Хронічне низькодозове опромінення населення внаслідок Чорнобильської катастрофи - це постійно діючий екологічний фактор на радіаційно забруднених територіях, що призводить до дестабілізації геному людини та розвитку детерміністських і стохастичних ефектів [2].

Широке впровадження ядерних технологій у промисловості, медицині, сільському господарстві, науці збільшує контингент професіоналів, які отримують додаткове променеве навантаження. Проведені розрахунки встановили, що вплив радіації в дозі 1 м<sup>3</sup> на 100 тис. населення протягом життя призводить до виникнення 5 % злоякісних новоутворень радіаційного ґенезу [3].

Первинна профілактика радіогенного раку в Україні на сьогодні майже відсутня [4], а існуючі окремі її компоненти характеризуються наступними недоліками:

- дослідження проводяться фрагментарно;
- відсутність реєстрації онкологічних захворювань професійного ґенезу, обумовленого дією іонізуючого випромінювання;

- відсутність контролю індивідуальної радіочутливості у медичного персоналу, що працює у сфері дії іонізуючих випромінювань (променева діагностика, радіаційна онкологія).

Відсутні цілісні уявлення щодо шляхів запобігання розвитку радіогенного раку та його первинної профілактики. Орієнтир вітчизняних фахівців на пошук радіозахисних препаратів в умовах гострого опромінення в великих дозах суттєво знизив дослідницький інтерес до особливостей дії малих доз іонізуючої радіації, які призводять до зростаючого вантажу нових мутацій (de novo) у нащадків опромінених осіб [5] та є канцерогенно небезпечними [6, 7].

Визначення індивідуальної радіаційної чутливості (ІРЧ) виконується в цілому тільки у онкологічних хворих з метою оптимізації променевої терапії. Дослідження серед контингенту умовно здорових осіб носять поодинокий, фрагментарний, суперечливий характер, не створюють наукової бази та не вирішують конкретних практичних завдань, спрямованих на виявлення осіб, гіперчутливих до дії іонізуючої радіації, та своєчасного забезпечення профілактичних заходів. Особливе значення це має при проведенні попередньої та поточної диспансеризації робітників підприємств з підвищеним канцерогенним ризиком умов праці.

Акумуляція радіаційно-індукованих генетичних пошкоджень в клітинах людини є потенційно онкогенною [8]. Лімфоцити людини - найбільш радіочутливі соматичні клітини, які визнані профільними міжнародними організаціями (ВООЗ, МАРАТЕ, НКДАР ООН) інформативним біоіндикатором опромінення, в тому числі в інтервалі дії малих доз [9]. Для первинної профілактики радіогенного раку

(19) UA (11) 67007 (13) U

об'єктивною є оцінка рівня і спектра радіаційно-індукованих аберацій хромосом в лімфоцитах периферичної крові (ЛПК) людини.

В основу корисної моделі поставлено задачу: розробити та науково обґрунтувати на основі результатів цитогенетичних досліджень способу первинної профілактики радіогенного раку.

Поставлена задача вирішується шляхом виявлення осіб з підвищеною чутливістю до дії іонізуючої радіації серед умовно здорового контингенту з урахуванням додаткового впливу комутагенів та наступним призначенням нетоксичних ефективних радіопротекторів та захисту їх геному від впливу малих (надфонових) доз опромінення. Спосіб, що пропонується, включає наступні етапи.

Визначення індивідуальної радіаційної чутливості. На основі розробленого та апробованого нами цитогенетичного тесту ( $G_2$ -radiation sensitivity assay) [10] серед умовно здорового контингенту здійснюється виявлення осіб з радіочутливим генотипом, що дозволяє прогнозувати індивідуальний ризик розвитку радіогенних пухлин.

Метод визначення ІРЧ людини полягає в оцінці цитогенетичного ефекту, індукованого тестуючим опроміненням в найбільш радіочутливому періоді (пізній  $G_2$ ) мітотичного циклу ЛПК в культурі. Аналіз метафаз першого мітозу дозволяє виявити індивідуумів, гіперчутливих до дії радіації. Поява хромосомних змін у клітинній популяції вважається потенційно онкогенною, відповідно підвищення ІРЧ у порівнянні з середньо популяційними значеннями є фактором ризику виникнення радіогенного раку.

Методика культивування ЛПК, приготування цитогенетичних препаратів та метафазний аналіз аберацій хромосом не відрізняється від загальноприйнятої [11]. Дотримання обґрунтованих і стандартизованих умов культивування, опромінення та фіксація клітин різних донорів є обов'язковою умовою для порівняння одержаних цитогенетичних показників і об'єктивізації оцінки ІРЧ.

Визначення ІРЧ умовно здорових осіб виконують наступним чином:

- тестуюче гамма-опромінення культури ЛПК здійснюють на 46 год. інкубації клітин;

- доза гамма-опромінення складає 1,5 Гр за потужності 1 Гр/хв., що дозволяє аналізувати достатню кількість метафаз та виявляти максимальну варіабельність показників ІРЧ;

- фіксація культури клітин на 52 год. інкубації забезпечує метафазний аналіз, а саме делецій хроматидного типу, в першому післяпроменевому мітозі, які об'єктивно діагностуються за такими критеріями: зміщення по довжині хроматиди; зміщення по осі хроматиди; перевернутість відносно осі (при підрахунку всі вони враховуються як розриви однієї хроматиди);

- хроматидну інтерстиціальну делецію оцінюють як хроматидний фрагмент.

Оптимальні умови для визначення ІРЧ людини представлені у схемі (фіг. 1, нижній рядок).

Індивідуальні розбіжності в радіочутливості хромосом формуються за рахунок рівня радіаційно-індукованих хроматидних делецій та клітин з множинними абераціями (фіг. 2). В групі осіб з підвищеною чутливістю хромосом до тест-опромінення значення цих показників більш ніж у двічі перевищують одержані значення в групі осіб з нормальною радіочутливістю ( $63,2 \pm 1,8$  делецій на 100 метафаз і 15,8 % клітин з множинними абераціями проти  $27,0 \pm 1,4$  і 5,5 % відповідно) [10].

Для практичного застосування розробленого нами хромосомного тесту визначення ІРЧ умовно здорових осіб ( $G_2$ -radiation sensitivity assay) запропоновано коефіцієнт ІРЧ ( $K_{IPЧ}$ ), який дорівнює відношенню:

$$K_{IPЧ} = M_{IPЧ} / M,$$

де (1)

$M_{IPЧ}$  - рівень загального числа аберацій хромосом у індивідуума;

$M$  - граничні значення нормального показника ( $M \pm 1,96 \sigma$ );

$\sigma$  - стандартне відхилення.

Для гіперчутливих осіб радіаційно-індукований цитогенетичний ефект перевищує верхню границю діапазону варіації нормальних значень і  $K_{IPЧ}$  становить  $>1$ , тоді як для гіпочутливих - ефект нижчий за нижню границю і  $K_{IPЧ} < 1$ .

В таблиці представлено результати розрахунків значень ІРЧ за формулою (1).

Таблиця

Частота генетичних пошкоджень в лімфоцитах периферичної крові умовно здорових донорів в залежності від індивідуальної радіаційної чутливості

Донор №	Стать	Вік	M <sub>IPЧ</sub>	K <sub>IPЧ</sub>
1	Чол.	45	64,6	1,0
2	Чол.	28	76,6	1,2*
3	Чол.	38	71,7	11*
4	Чол.	42	51,0	0,8
5	Чол.	40	56,0	0,9
6	Чол.	32	59,0	0,9
7	Жін.	45	67,0	1,0
8	Чол.	39	82,0	1,3*
9	Чол.	51	62,0	1,0
10	Жін.	48	63,5	1,0

Примітка: M<sub>IPЧ</sub> = загальна частота аберацій хромосом на кожні 100 проаналізованих метафази; M $\pm$ 1,96 $\sigma$ =63,2; \* - донори з підвищеною чутливістю до дії іонізуючої радіації.

Застосування методу визначення IPЧ людини дозволяє виявити серед здорового контингенту 12 % осіб з підвищеними показниками радіаційної чутливості [10].

Облік впливу комутагенів (не мають мутагенних властивостей, але можуть суттєво модифікувати/підсилювати ефекти відомих мутагенів, в тому числі ефекти малих доз опромінення). Особливу небезпеку серед них викликають такі лікарські препарати, як антагоністи кальцію, кофеїн тощо, дія яких пов'язана з пригніченням процесів репарації. Нами встановлено, що кофеїн (>200 мкг/мл крові), не впливаючи на спонтанний рівень аберацій хромосом в культурі ЛПК, підсилює цитогенетичний ефект малих доз опромінення в 5,7 разу, тобто погіршує стабільність геному. Саме тому у способі, що заявляється, пропонується для осіб з визначеною підвищеною IPЧ різке обмеження призначення комутагенів.

Використання нетоксичних радіопротекторів, що підвищують стійкість геному людини. Як такий радіопротектор у способі, що заявляється, пропонуються препарати інозин та тималін, дія яких пов'язана з активацією ферментативних процесів репарації.

Введення інозину в культуру ЛПК умовно здорових осіб до гамма-опромінення знижує частоту радіаційно-індукованих аберацій хромосом у всьому дослідженому діапазоні доз (0,1-1,0 Гр). Найбільший радіозахисний ефект інозину спостерігається при опроміненні клітин в діапазоні малих доз -0,1-0,2-0,3 Гр. Рівень радіаційно-індукованих аберацій хромосом знижується з 6,06 $\pm$ 0,6; 7,06 $\pm$ 1,6; 7,76 $\pm$ 1,0 до 1,6 $\pm$ 0,1; 2,6 $\pm$ 0,4; 2,2 $\pm$ 0,6 на кожні 100 клітин, відповідно, досягаючи таким чином значень середньо-популяційного спонтанного рівня генетичних пошкоджень у ЛПК людини [12].

До ефективних радіопротекторів правомірно віднести й препарати тимічного походження (в тому числі тималін), мішенню дії для яких є саме лімфоцити людини [13]. Нами встановлено, що при дії тималіна ("Біофарма", Україна) в профілактичній дозі (із розрахунку 0,002 мг/мл крові) до

опромінення в дозі 0,2 Гр рівень абераційних лімфоцитів і загальна кількість аберацій хромосом знижується з 5,0 $\pm$ 1,0 % до 2,0 $\pm$ 0,9 %, а при дозі 0,5 Гр - з 8,0 $\pm$ 1,0 % до 4,0 $\pm$ 0,8 %. При цьому під впливом тималіну в лімфоцитах "зникали" променеві маркери - дицентричні хромосоми.

Найкращим чином рекомендовані препарати проявляють радіопротекторні властивості на фоні вітамінної забезпеченості організму, доповнюючи підходи до захисту геному людини від мутагенної дії малих доз іонізуючої радіації.

При здійсненні комплексу мір по профілактиці радіогенного раку із застосуванням запропонованого способу рекомендуємо також враховувати наявність в анамнезі інформації про супутні перераховані стани, шкідливі звички, незбалансованість харчування та ін.

Спосіб первинної профілактики розвитку радіогенного раку, що заявляється, доцільно реалізовувати, в першу чергу, при підборі кадрів для роботи в сфері дії іонізуючих випромінювань, в тому числі для профорієнтації працівників атомних підприємств, моніторингу найбільш вразливих груп населення, що проживає на радіаційно-забруднених територіях, а також медичних працівників (радіаційних онкологів, променевих діагностів).

Приклади практичного застосування корисної моделі.

Приклад 1.

При цитогенетичному обстеженні умовно здорового донора № 1 (чол., 45 р.) спонтанний рівень хромосомних аберацій в лімфоцитах периферичної крові становив 1,7 аберацій на кожні 100 проаналізованих метафаз. Даний цитогенетичний показник знаходиться в межах норми загальноприйнятих популяційних значень (1-3 %).

Індивідуальна частота хромосомних аберацій, індукованих відповідно до хромосомного G<sub>2</sub>-Тесту, становила 64,6/100 клітин.

Коефіцієнт індивідуальної радіочутливості (K<sub>IPЧ</sub>), що обчислюється за формулою (1):

$$K_{IPЧ} = M_{IPЧ} / M,$$

де

$M_{IPЧ}$  - рівень загального числа аберацій хромосом у індивідуума;

$M$  - граничне значення норми для частоти аберацій хромосом ( $M \pm 1,96\sigma$ );

$\sigma$  - стандартне відхилення

для обстеженого донора становить 64,6/63,2, що дорівнює 1,0 і свідчить про його нормальну радіочутливість.

Висновок: протипоказань для роботи у сфері дії іонізуючих випромінювань немає.

Приклад 2.

При цитогенетичному обстеженні умовно здорового донора № 8 (чол., 39 р.) спонтанний рівень хромосомних аберацій в лімфоцитах периферичної крові становив 2,1 аберацій на кожні 100 проаналізованих метафаз. Даний цитогенетичний показник знаходиться в межах норми загальнопопуляційних значень (1-3 %).

Індивідуальна частота хромосомних аберацій, індукованих відповідно до хромосомного  $G_2$ -тесту, становила 82,0/100 клітин.

Коефіцієнт індивідуальної радіочутливості ( $K_{IPЧ}$ ), що обчислюється за формулою (1):

$$K_{IPЧ} = M_{IPЧ} / M,$$

де

$M_{IPЧ}$  - рівень загального числа аберацій хромосом у індивідуума;

$M$  - граничне значення норми для частоти аберацій хромосом ( $M \pm 1,96\sigma$ );

$\sigma$  - стандартне відхилення

для обстеженого донора становить 82,0/63, що дорівнює 1,3 і свідчить про індивідуальну гіперчутливість до дії іонізуючих випромінювань.

Висновок: на підставі отриманих результатів хромосомного  $G_2$ -тесту умовно здоровому донору протипоказано перебування в умовах дії іонізуючих випромінювань та рекомендовано призначення курсу радіопротектора, жорстке обмеження речовин с комутагенним ефектом та повторне цитогенетичне обстеження с використанням хромосомного  $G_2$ -тесту через 6 місяців.

Таким чином, спосіб первинної профілактики радіогенного раку, який запропоновано у заявці, забезпечує зниження канцерогенного ризику при дії іонізуючих випромінювань в діапазоні малих (надфонових) доз шляхом оцінки індивідуальної радіаційної чутливості організму людини із залученням цитогенетичного тесту ( $G_2$ -radiation sensitivity assay), обліку додаткового впливу комутагенів з подальшим призначенням нетоксичних радіопротекторів для осіб з радіочутливими генотипами.

Використані джерела:

1. Райхман Я.Г. Теоретические основы профилактики рака.-2009. - 350 с.

2. Дубова Н.Ф., Омелянец М.И., Гунько Н.В. Смертность жителей наиболее радиоактивно загрязненных внаслідок Чорнобильської катастрофи територій України / Матер. міжнародн. конф. "Двадцять п'ять років Чорнобильської катастрофи. Безпека майбутнього". К., 2011. - С. 171-172.

3. Зарідзе Д.Г. Эпидемиология и этиология злокачественных опухолей // Вестн. РАМН. 2001. - № 9. - С. 6-14.

4. Кундієв Ю.И., Нагорна А.М., Варивончик Д.В. Професійний рак: епідеміологія та профілактика. К.: Наукова думка, 2008. 320 с.

5. Глущенко А.И., Сусков И.И., Балева Л.С. и др. Радиационно-экономические и медико-генетические последствия Чернобыльской катастрофы через 20 лет и прогноз на будущее // Междунар. журнал радиац. медицины. - 2005. - Т. 7. - № 1-4. - С. 8-13.

6. Гофман Д. Рак, вызываемый облучением в малых дозах: неформальный анализ проблемы. Пер. с англ. / Под ред. Е.Б. Бурлаковой, В.Н. Лысцова. - М.: Наука, 1994. - Т. 1.-320 с. - Т. 2. - 250 с.

7. Domina E.A. Low-dose ionizing radiation as risk factor for malignant neoplasms occurrence among Chernobyl NPP accident liquidation participants. - Chernobyl Catastrophe. 20 years later. Greenpeace report. - Amsterdam:Greenpeace.-2006. - P.235-241.

8. Hagmar L., Stromberg U., Bonassi S.et al. Impact of types of lymphocyte chromosomal aberrations on human cancer risk: results from Nordic and Italian cohorts // Cancer Res.-2004. - Vol.64. - P. 2258-2263.

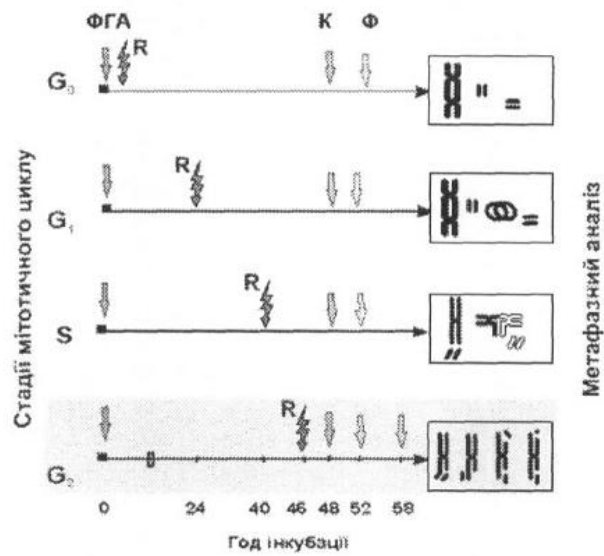
9. Biological dosimetry: chromosome aberration analysis for dose assessment. Technical Reports series, № 260. - Vienna: Int. Atom. Energy Agency, 1986. - 69 p.

10. Дьоміна Е.А., Рябенко Н.М., Дружина М.О., Чехун В.Ф. Цитогенетичний спосіб ( $G_2$ -assay) визначення індивідуальної радіочутливості людини з метою первинної профілактики радіогенного раку. Метод, рекомендації. Київ, 2007.-28 с.

11. Снигирева Г.П., Богомазова А.Н., Новицкая Н.Н. и соавт. Биологическая индикация радиационного воздействия на организм человека с использованием цитогенетических методов // Метод, рекомендации. - Санкт-Петербург, 2007. - 32 с.

12. Заявка на патент України на корисну модель № u201015561 від 23.12.2010 / Спосіб зниження частоти спонтанних та радіаційно-індукованих генетичних пошкоджень в соматичних немалігнізованих клітинах людини / Чехун В.Ф., Дьоміна Е.А., Демченко О.М. - Позитивне рішення від 23.05.2011.

13. Гриневич Ю.А., Демина Э.А. Иммунные и цитогенетические эффекты плотно- и редкоизирующих излучений. К.: Здоров'я; 2006. - 200 с.



Фіг. 1

Схема досліджень для визначення індивідуальної радіаційної чутливості людини на хромосомному рівні лімфоцитів периферичної крові людини.  
 Позначення: ФГА - мітоген фітогемаглютинін, R - гамма-опромінення, К - колцемід для блокування клітин на стадії метафази, Ф - фіксація культури клітин.



Фіг. 2

Мікрофото аберацій хроматидного типу у лімфоцитах периферичної крові умовно здорового донора з підвищеною індивідуальною радіочутливістю.  
 Позначення: делеції в двох хромосомах з різною локалізацією за довжиною хроматид (позначено →).

