

Введение
Открытие рентгеновских лучей стало самым настоящим прорывом в науке конца 19 века и легло в основу целого направления в медицине, которое получило название рентгенологии. Самое интересное, что уже первое фотодоказательство рентгеновских лучей представляло из себя фотоснимок кисти руки человека. И в скором времени ученые предложили использовать рентгеновские лучи для исследования состояния внутренних органов человека и выявления их патологий [1]. В частности в России первая рентгенологическая клиника была открыта в 1918 году, а через три года в Санкт-Петербурге появился первый рентген в стоматологической клинике. Очень быстро рентгенология стала настолько популярна в медицинской практике, что ее стали применять практически во всех необходимых случаях. Впрочем, этот период продолжался очень недолго, так как было отмечено большое количество и негативных факторов воздействия рентгеновских лучей, которые были связаны с их ионизирующим воздействием на клетки человеческого организма. Но все же это далеко не повод говорить о том, что рентгенология уже уходит в историю. Единственное только можно сказать о том, что сфера применения рентгеновских лучей сузилась. Причем это произошло из-за того, что были открыты и другие способы исследований - в частности ультразвуковое, которое является значительно более безопасным и с успехом применяется даже для таких сложных исследований, как исследование головного мозга на наличие кровоизлияний. Что касается самой рентгенологии, то сегодня она разделилась на несколько направлений. В частности, медицинские книги выделяют такие: компьютерная томография, ангиография, рентгенотелевидение, рентгенотерапия и так далее. При этом нельзя не отметить, что современное рентгеновское исследование значительно безопаснее для человека, чем несколько десятков лет назад. Связано это с тем, что использование современных рентгеновских аппаратов позволяет добиться необходимых результатов исследования с помощью использования значительно меньших доз излучения, и при этом, с внедрением специальных цифровых аппаратов, появилась возможность значительно большего пространственного изображения. Что касается области применения, то чаще всего сегодня рентгеновские лучи используются для исследования легких, различных частей скелета, позвоночника, зубов, брюшной полости и так далее. Развитие техники рентгеновских исследований позволило значительно сократить время экспозиции и улучшить качество изображений, позволяющих изучать даже мягкие ткани, все эти исследования делают с помощью рентгеновского аппарата [1]. Целью настоящей работы было выяснение оценки генотоксических эффектов рентгеновского облучения. Материалы и методы исследования Аппаратура: рентгенодиагностический аппарат на 2 рабочих места (по названию, заводскому номеру излучателя уточню у Анны и дополнительно вышлю): стойка снимков для проведения рентгенографических процедур и поворотный стол-штатив. Проба 1.

Режим исследования: Напряжение на рентгеновской трубке 76кВ, экспозиция 32 mAs, поглощенная доза рентгеновского излучения 1,86 мГр. Условия проведения исследования соответствовали условиям (режим исследования, диафрагмирование рентгеновского излучения, использование дополнительных фильтров), создаваемых персоналом кабинета для получения рентгеновского снимка поясничного отдела позвоночника взрослого человека (старше 19 лет) в боковой проекции на аналоговом пленочном носителе. Проба 2. Режим исследования: Напряжение на рентгеновской трубке 77кВ, экспозиция 125 mAs, поглощенная доза рентгеновского излучения 1,71 мГр. Условия проведения исследования соответствовали условиям (режим исследования, диафрагмирование рентгеновского излучения, использование дополнительных фильтров), создаваемых персоналом кабинета для получения рентгеновского снимка поясничного отдела позвоночника взрослого человека (старше 19 лет) в прямой задней проекции на аналоговом пленочном носителе. Проба 3. Режим исследования: Напряжение на рентгеновской трубке 95кВ, экспозиция 125 mAs, поглощенная доза рентгеновского излучения 1,57 мГр. Условия проведения исследования соответствовали условиям (режим исследования, диафрагмирование рентгеновского излучения, использование дополнительных фильтров), создаваемых персоналом кабинета для выполнения специального вида исследования (антеградной урографии) взрослому человеку (старше 19 лет). Аппаратура: рентгенодиагностический комплекс на 3 рабочих места (стойка снимков для выполнения рентгенографии, поворотный стол-штатив, рабочее место для проведения рентгеноскопических исследований). Проба 4. Режим исследования: Напряжение на рентгеновской трубке 117кВ, экспозиция 11,43 mAs, поглощенная доза рентгеновского излучения 0,2 мГр. Условия проведения исследования соответствовали условиям (режим исследования, диафрагмирование рентгеновского излучения, использование дополнительных фильтров), создаваемых персоналом кабинета для выполнения обзорного снимка органов грудной полости взрослому человеку (старше 19 лет) на аналоговом пленочном носителе. Проба 5. Режим исследования: Рентгеноскопический режим (напряжение на трубке 91кВ, сила тока 2,7 мА) с последующим выполнением рентгеновского снимка с напряжением на рентгеновской трубке 70 кВ, экспозицией 43,5 mAs. Поглощенная доза рентгеновского излучения 1,4 мГр. Проба 6. Режим исследования: Рентгеноскопический режим (напряжение на трубке 91кВ, сила тока 2,7 мА) с последующим выполнением рентгеновского снимка с напряжением на рентгеновской трубке 110 кВ, экспозицией 29,5 mAs. Поглощенная доза рентгеновского излучения 1,34 мГр. Оценка токсичности биологических, химических соединений и различных физических воздействий по отношению к тестерным микроорганизмам - обязательный этап, необходимый для подбора диапазона оптимальных концентраций и доз, при тестировании их на

генотоксичность и мутагенность. Проведение эксперимента 1. За 12-15 ч. до проведения эксперимента делают пересев культуры тестерного штамма *Salmonella typhimurium* TA 100 с косяка в 5 мл LB-бульона для получения "ночной" культуры. 2. 2% LB-агар разливают в чашки Петри. 3. Делают разведения "ночной" культуры в водопроводной воде. 4. Растопленный 0.6% LB-агар разливают стерильно по 3 мл в пробирки и ставят в водяную баню при 45°C. 5. В пробирки с 3 мл полужидкого 0.6% LB-агара вносят 0.1 мл бактериальной суспензии нужного разведения и 0.1 мл раствора вещества в исследуемой концентрации (в нашем случае опытным вариантом служили облученные образцы). Раствор перемешивают и наслаивают на нижний 2% LB-агар в чашки Петри. В контроле вместо раствора вещества добавляют 0.1 мл растворителя (в случае облучения опытных образцов добавления растворителя в контроль не требовалось). После 24ч. инкубации при 37°C подсчитывают число колоний, выросших на чашках Петри в опытном и контрольном вариантах. Для оценки степени токсичности исследуемого вещества (в нашем случае - доз облучения) используют критерий "выживаемость" тестерного штамма при действии определенной дозы вещества.
$$\text{Выживаемость} = \frac{\text{число колоний в опыте}}{\text{число колоний в контроле}} \times 100\%$$
 Среда: LB-бульон: триптон - 10 г, дрожжевой экстракт - 5 г, NaCl - 5 г, дистиллированная вода - 1000 мл. 2% LB-агар: LB-бульон - 1000 мл, агар - 20 г. 0,6% LB-агар: LB-бульон - 1000 мл, агар - 6 г. В нашем случае разведение культуры делали до 10⁻⁵. Полученные результаты представлены на рисунке (число КОЕ/ч.Петри). Все сконструированные Эймсом с соавторами [2] тестерные штаммы исходно получены из штамма *Salmonella typhimurium* дикого типа LT2. Для повышения чувствительности этих штаммов к химическим мутагенам и канцерогенам в геном бактерий введены некоторые добавочные маркеры. Оценку мутагенности проводили в тесте Эймса на мутантном штамме *S. typhimurium* TA 100 - his G46, rfa, uvr-, pkm 101, bio-. Мутация в гистидиновом опероне (his-) вызывает ауксотрофность по этой аминокислоте у мутантов. Штамм TA 100 регистрирует мутации типа замены пар оснований (his G46). Мутация в гене uvr В приводит к нарушению процесса эксцизионной репарации, благодаря чему возникшее повреждение ДНК остается неисправленным и, таким образом, увеличивается чувствительность тестерного штамма к некоторым мутагенам. Делеция в гене uvr В проходит также и через ген bio. При rfa-мутации ("шероховатые колонии") нарушается синтез липополисахаридов, в результате чего клетка теряет патогенность, а также возрастает проницаемость ее клеточной стенки и облегчается проникновение мутагенов в клетку. Штамм TA 100 несет также плазмиду устойчивости к ампициллину pKm 101 и ген umi С, что увеличивает вклад ошибочной репарации в процесс мутагенеза, и, следовательно, чувствительность штамма [2,3]. В тесте на токсичность также использовали мутантный штамм *S. typhimurium* TA 100. Сущность теста заключается в том, что тестерные штаммы бактерий *Salmonella*

typhimurium культивируют на специальной среде, на которой могут расти лишь мутанты этих штаммов, у которых произошла мутация от ауксотрофности по гистидину к прототрофности. Без внешних воздействий такие мутации происходят с низкой частотой. Если в среду культивирования ввести химический мутаген, или воздействовать физическим мутагеном (например, радиационное облучение), то частота мутаций значительно увеличивается, что регистрируется по числу колоний. Если число колоний-ревертантов в опыте и контроле достоверно различается менее, чем в 2.5 раза, то делается заключение об отсутствии мутагенной активности. Если фиксируют превышение от 2.5 до 10 раз, то делается заключение о наличии слабой мутагенной активности. Превышение от 10 до 100 раз говорит о средней мутагенной активности исследуемого соединения. Если фиксируют превышение более, чем в 100 раз, вещество обладает сильной мутагенной активностью [4,5]. Проверке на мутагенность всегда предшествовала проверка токсичности облучения по отношению к тестерным штаммам для исключения возможности получения ложноотрицательных результатов в испытаниях на мутагенность.

Статистический анализ проводили с использованием стандартных математических методов в компьютерной программе "Microsoft-Excel". Оценка токсических и генотоксических эффектов исследуемых доз облучения

Токсический эффект определяли по выживанию тестерного штамма в опытных вариантах по сравнению с контрольным [4,5]. Ранее аналогичные исследования нами были проведены в отношении химических соединений фуранонового ряда [6] и облучения на рентгено-компьютерных томографах [7]. Тестерным штаммом в опыте служила *Salmonella typhimurium* TA 100. В ходе работы было показано, что выживаемость штамма составляет от 50 до 90%, что позволяет использовать предлагаемые дозы облучения для исследования на мутагенность в тесте Эймса (рис. 1). Рис. 1 - Число КОЕ *S. typhimurium* на ч. Петри в облученных вариантах по сравнению с контролем

Далее мы определяли мутагенные эффекты исследуемых доз облучения. Результаты представлены на рис. 2. Из рисунка видно, что в образцах 1, 2 и 6 выявлено значительное превышение колоний-ревертантов над контролем (в 6, 4 и 3 раза соответственно), что говорит о слабом мутагенном эффекте исследуемых доз облучения. В остальных образцах мутагенные эффекты облучения не были обнаружены. Рис. 2 - Число колоний-ревертантов в тесте Эймса в облученных вариантах по сравнению с контролем

Известно, что в состоянии стресса бактериальные клетки претерпевают ряд изменений, в том числе касающихся их биохимических, физиологических и структурно-морфологических особенностей. При действии определенных стрессоров бактериальные клетки способны утрачивать ряд своих функций, которые затем могут восстанавливаться при снятии стрессорного воздействия. Также при действии стрессора возможно проявление качеств, не свойственных клетке в обычном состоянии. В связи с этим необходимы дальнейшие

исследования рентгеновского облучения в отношении естественной микрофлоры человека. Таким образом, нами показано, что рентгеновское облучение является стрессорным фактором для микроорганизмов, в связи с чем необходимы исследования подобных воздействий на собственную микрофлору человека.