Ю.П.Рева, Н.М.Портянко, А.С.Иванов, А.Г.Чучалин

ВЫЯВЛЕНИЕ МЕТОДАМИ РАСТРОВОЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ И РЕНТГЕНОВСКОГО МИКРОАНАЛИЗА ЛОКАЛИЗАЦИИ В ЛЕГКИХ ЧЕЛОВЕКА «ГОРЯЧИХ ЧАСТИЦ», ОБРАЗОВАВШИХСЯ В РЕЗУЛЬТАТЕ АВАРИИ НА ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АТОМНОЙ ЭЛЕКТРОСТАНЦИИ

Научно-производственный экологический центр «ЭНТОС» Института химической физики Российской академии наук

APPLICATION OF THE METHODS OF SCANNING ELECTRON MICROSCOPY AND X-RAY MICROANALYSIS FOR «HOT PARTICLES» DIRECTION IN THE HUMAN LUNGS FORMED AS A RESULT OF THE CHERNOBYL KATASTROPHE

Yu.P.Reva, N.M.Portyanko, A.S.Yvanov, A.G.Chuchalin

Summary

The up-to-date approaches to «hot particles» studying were applied in this investigation. A complex of morphological and phisical-chemical methods make it possible to detect and identify the «hot particles» in the autopsy material of the lungs from 2 males at the age 27 and 25, who participated in the liquidation of Chernobyl katastrophe consequences in 1986. The patients died after having worked in the zone of katastrophe 1 and 2,5 years from cerebral hemorrage and acute leukemia respectively. For analyzing the autopsy material the gamma-spectrometry, hystoautoradiography, scanning electron microscopy and x-ray microanalysis methods were applied. The elemental and isotope content of these particles was the same as that of the «hot particles» detected in the zone of the katastrophe. The results obtained make it possible to suppose that the «hot particles» have been inhaled and existed for a long time in the human bodies. On the basis of these data we suppose that the «hot particles» are the cause of respiratory and other systems disorders.

Резюме

В настоящей работе использованы современные биофизические подходы для изучения «горячих частиц» в легочной ткани человека. Сочетание морфологических и физико-химических методов исследования позволило выявить и идентифицировать «горячие частицы» в аутопсированной ткани легких 2 человек (мужчин 27 и 25 лет), принимавших участие в ликвидации последствий аварии на Чернобыльской атомной электростации в 1986 г. Смерть больных наступила через 1 и 2,5 года от кровоизлияния в мозг и острого лейкоза, соответственно, после работ в зоне аварии. Для анализа материала использовали гамма-спектрометрию, гистоауторадиографию, растровую электронную микроскопию, рентгеновский микроанализ. Для подготовки биоматериала были разработаны специальные методики. Элементный и изотопный состав радиочастиц соответствовал составу «горячих частиц», выявленных в окружающей среде зоны аварии. На основании полученных данных можно утверждать об аэрогенном пути поступления в организм человека «горячих частиц» с различной активностью и изотопным составом, а также длительном их сохранении в организме. Полученные данные позволяют предположить участие «горячих частиц» в индукции различных заболеваний как органов дыхания, так и других органов и систем человека. Впервые выявленный эффект кальцинирования в зоне расположения «горячих частиц» указывает как на защитные механизмы, способные снизить вредное действие «горячих частиц», так и на отрицательные последствия этого явления.

Одним из основных путей проникновения различных веществ, в том числе и вредных, в организм человека является аэрогенный. Это связано с большим объемом воздуха, проходящего через легкие, а также с большой площадью поверхности альвеол — 100 м² у взрослого человека [5], соприкасающихся с аэрозольными частицами воздуха. Поэтому патогенез ряда заболеваний можно связать и с проникновением через органы дыхания продуктов деления урана и плутония, образовавшихся в окружающей среде в виде аэрозольных выбросов при испытаниях ядерного оружия в атмосфере, наземных взрывах, при авариях в хранилищах отходов облученного реакторного топлива, аварийных выбросов атомных

электростанций и, в частности, Чернобыльской атомной электростанции (ЧАЭС).

Так, длительное поступление и сохранение в организме человека и животных радионуклидов, включая трансурановые элементы, может индуцировать различные заболевания, а доза радиации, полученная легкими, печенью и другими органами при ингаляции частиц плутония, америция и других трансурановых элементов, часто оказывается критической для формирования опухоли [3,9,10,11].

Чернобыльская катастрофа привела к беспрецедентному выбросу радиоактивности в окружающую среду. Уже в первых сообщениях о чернобыльских радиоактивных выпадениях отмечено наличие в них микроскопических частиц — «горячих частиц» (ГЧ) — с весьма высокой удельной активностью [1,2,4]. Тепловой взрыв четвертого блока ЧАЭС привел к разрушению активной зоны, вследствие чего в атмосферу было выброшено около 3,5% ядерного топлива. Под действием резкого энерговыделения в твэлах, обусловленного ростом нейтронного потока, самой ударной волны и температурных градиентов происходило диспергирование ядерного топлива. Высокая температура активной зоны реактора, установившаяся в результате остаточного тепловыделения и горения графита, привела к окислению диоксида урана и дополнительному диспергированию и выносу из зоны топливных частиц, а также утечке ряда летучих радионуклидов, так называемая парогазовая или струйная компонента выброса, часть которых конденсировалась на инертных носителях частицах сажи, пыли, конструкционных материалов, а также материалах, используемых при тушении пожара (свинец, песок и др.). Конденсационная компонента выпадений, образовавшихся в результате аварии на ЧАЭС, схожа с глобальными выпадениями радионуклидов после испытаний ядерного оружия и имеет некоторые общие физико-химические свойства [1,2]. Однако поведение в окружающей среде и организме человека «горячих частиц», содержащих основную массу биологически значимых радионуклидов, остается до настоящего времени еще не совсем ясным. Поэтому предстоит решать целый ряд задач, касающихся выяснения истинных свойств и поведения ГЧ, связанных как с временным фактором, так и с распределением и концентрацией их в организме.

Пространственное распределение радионуклидов в легочной или другой ткани и клетках может быть определено с помощью световой микроскопии, просвечивающей и растровой электронной микроскопии в сочетании с ауторадиографией на жидкой фотографической эмульсии, компьютерной системы анализа изображения и методами ауторадиографической детекции с помощью ядерной трек-

пленки или пластинок [6,7,8,10].

В задачи нашей работы входило выявление и идентификация в ткани легких человека ГЧ, образовавшихся в результате аварии на ЧАЭС.

Для решения поставленных задач мы использовали комплексный подход с привлечением гистологических и современных физико-химических методов исследования — гамма-спектрометрию, гистоауторадиографию, растровую электронную микроскопию и электронно-зондовый рентгеновский

микроанализ.

Материалом для исследования послужили аутопсированные ткани легких от 2 человек, мужчин, в возрасте 27 и 25 лет, принимавших участие в ликвидации последствий аварии на ЧАЭС в конце 1986 г. и в начале 1987 г. Оба ликвидатора умерли в различные сроки после выхода их из зоны ЧАЭС. Первый больной умер скоропостижно от кровоизлияния в мозг в конце 1987 г. Второй — заболел в мае 1989 г., диагноз — острый миелобластный лейкоз, умер в августе 1989 г. от прогрессирования основного заболевания. Дозовая нагрузка у обоих ликвидаторов в конце работы при выходе из зоны, согласно данным

медицинской документации, составила около 20 бэр, показания счетчика излучений человека (СИЧ) у обоих соответствовали уровню фона.

Легочную ткань, указанных лиц, полученную при аутопсии, после фиксации в 10% нейтральном формалине анализировали на гамма-спектрометре, который измерял активность гамма-излучающих радионуклидов, локализованных в образцах. Измерения проводили В.А.Кашпаров, Н.М.Портянко, Ю.П.Рева и др. на высокоэффективном низкофоновом гамма-спектрометре «ADCAM—300» фирмы «EC&G ORTEC» (США). После гамма-спектрометрического анализа из ткани нижней доли легкого готовили срезы, которые затем экспонировали на рентгеновской пленке марки РМ—В, с последующим ее проявлением.

После анализа образцов методом ауторадиографии кусочки тканей помещали на алюминиевые подложки и напыляли золотом в вакуумной установке JFC— 1100 фирмы «JEOL» (Япония). Подготовленные таким образом объекты исследовали на электроннозондовом рентгеновском микроанализаторе «Super Probe» фирмы «JEOL» (Япония), управляемого компьютером, в котором полученные данные последовательно накапливали в памяти, классифицировали по разным уровням после компьютерной обработки и выводили на диск в виде карты участков, суммирующей информацию, полученную при анализе микроучастков. Ускоряющее напряжение прибора — 20,25кВ, ток — 100—500 мкА. Топографию поверхности интересующих участков ткани легких и «горячих частиц» изучали по изображению во вторичных и в упругоотраженных электронах, позволяющих анализировать тяжелые элементы. Анализ элементов в «горячих частицах» проводили диапазоне от ⁴Ве до ⁹²U.

Комплексное исследование аутопсийной ткани

легких позволило установить следующее.

Гамма-спектрометрический анализ образцов показал присутствие в них радионуклидов — 54 Mn; 60 Co; 103 Ru; 106 Ru; 133 Se; 125 Sb; 134 Cs; 137 Cs; 140 Ba; 144 Ce; 152 Eu; 154 Eu; 155 Eu; 214 Pb; 232 Th; 238 U; 241 Am. Эти радионуклиды выявляются и в ГЧ, образовавшихся в результате аварии на ЧАЭС.

Экспонирование срезов на рентгеновской пленке позволило выявить множественные участки локальной активности в легочной ткани в виде засвеченных пятен, которые имели различную интенсивность и диаметр. Интенсивность этих засвеченных зон сопоставима по мощности дозы с калибровочными снимками, полученными от различных «горячих частиц», выявляемых в окружающей среде после аварии на ЧАЭС.

При изучении топографии кусочков ткани легких методом растровой электронной микроскопии (РЭМ) выявляется тонкая структура альвеолярных стенок и сосудов (рис.1). «Горячие частицы» в ткани идентифицируются по изображению во вторичных и упругоотраженных электронах. Этот режим позволяет идентифицировать ГЧ по присутствию в них тяжелых элементов. Размер ГЧ составляет от 1 до 30 мкм в поперечном сечении. Они имеют шарообразную или неправильную форму со сравнительно гладкой поверхностью либо бугорчатый микрорельеф (рис.2). Подробный анализ изображения

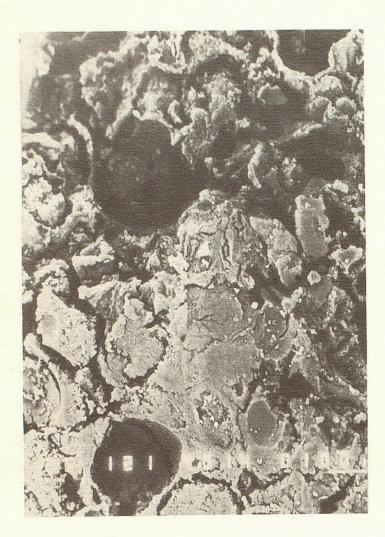


Рис. 1. Участок среза ткани нижней доли легкого. Видна тонкая структура альвеолярных стенок и сосудов. В центре электронограммы — «горячая частица» в виде белого вкрапления треугольной формы. РЭМ.

образцов и их ауторадиограмм позволил выявить, что расположение ГЧ на электронограммах соответствует изображению засвеченных участков на рентгеновской пленке.

При рентгеновском микроанализе ГЧ были идентифицированы в них следующие элементы — Y, Si, Mg, Te, Ca, Cu, Ni, Co, Fe, Sm, Cr, Nd, V, Sr, Yb, Ba, Sb, Ag, Rh, Ru, Nb, La, Mn, Eu, Rb, Th, Pd, Gd, Cs, Zr, Zn. Сопоставляя эти данные с данными литературы, установлено, что элементный состав ГЧ, локализованных в легких, совпадает с составом частиц, обнаруженных в окружающей среде после аварии на ЧАЭС, а также с изотопным составом крови пациентов, работавших на станции по ликвидации последствий аварии. Активность этих ГЧ по альфа-, бета- и гамма-излучению может превышать 1·10⁴Бк.

Анализ результатов исследования позволяет характеризовать ГЧ, выявленные в тканях легких, как альфа-, бета- и гамма-излучатели. Это указывает на их высокую биологическую активность в организме человека и образование в зоне расположения ГЧ высокотоксичных неорганических элементов — продуктов распада первичных радионуклидов, а также органических молекул —

радиотоксинов, образующихся вследствие взаимодействия биомолекул с альфа-, бета- и гаммаизлучением и радикальных реакций.

В аспекте полученных данных важно также отметить, что при полуколичественном рентгеновском микроанализе образцов ткани легких была выявлена в зоне ГЧ значительная концентрация кальция. Мы охарактеризовали этот выявленный нами факт как защитный механизм от воздействия альфаи бета- излучения на окружающую ткань — эффект капсулирования ГЧ. Ранее это явление в радиобиологии не было известно, и биохимический механизм его предстоит еще выяснить в дальнейших наших исследованиях.

Обращает на себя внимание и тот факт, что ГЧ в легочной ткани выявляются у человека через два года после аварии на ЧАЭС. Это позволяет говорить о длительном сохранении ГЧ в организме человека, которые могут оказывать пролонгированное воздействие на обменные реакции и индуцировать различные заболевания, в том числе и опухоли.

Развивая нашу рабочую гипотезу, можно также предположить, что индукция опухоли в органах и тканях вероятнее всего происходит в местах расположения высокоактивных радиочастиц (ГЧ) и высокой их концентрации. В этих зонах ГЧ

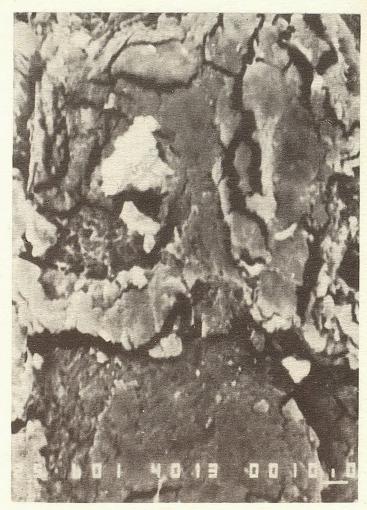


Рис. 2. Зона расположения «горячих частиц» в легочной ткани. Видны две «горячие частицы» разного размера: ГЧ порядка 10 мкм в поперечном сечении; ГЧ порядка 30 мкм в поперечном сечении. Хорошо различим их бугорчатый микрорельеф. РЭМ.

могут вызывать локальный некроз ткани с последующим кальцинированием и образованием капсулы. Явление кальцинирования в легочной ткани позволяет нам высказать следующие предположения: высокие локальные дозы в зоне ГЧ вызывают некроз окружающей легочной ткани и, следствие, кальцинирование; формирование защитной капсулы с высоким содержанием кальция предусматривает длительное сохранение «горячей частицы» в ткани и в дальнейшем развитие заболевания дыхательных путей, в частности диффузный фиброз По нашим представлениям, кроме положительного эффекта в виде формирования защитной капсулы, возможен и отрицательный эффект, так как при попадании в кровоток «горячая частица», прикрепившись к стенке сосуда, может увеличиваться в размерах за счет кальцинирования и вследствие этого вызывать нарушения микроциркуляции с последующими метаболическими нарушениями в клетках и тканях.

Таким образом, проведенные нами исследования позволили выявить поступление и сохранение длительное время ГЧ в организме человека. Учитывая высокую альфа-, бета- и гамма- активность радионуклидов, локализованных в зоне ГЧ, можно полагать, что они способны индуцировать ряд заболеваний как органов дыхания, так и других органов и систем человека, в том числе и развитие опухоли.

Выявляются в организме и защитные механизмы, способные снизить вредное действие ГЧ, — это капсулирование. Эффективность последнего очевидна, т.к. в этом случае клетки и ткани в организме экранируются от альфа- и бета-излучения кальцием.

ЛИТЕРАТУРА

1. Информация об аварии на Чернобыльской АЭС и ее последствия, подготовленная для МАГАТЭ // Атомная

энергия.— 1986.— Т.61, N 5.— С.301—320. 2. Кашпаров В.А., Лощилов Н.А., Процак В.П. и др. // Проблемы сельскохозяйственной радиологии.— М., 1992.— Вып.2.— С.1—9.

3. Проблемы радиобиологии ²³⁸Pu / Москалев Ю.И., Заликин Г.А., Нисимов П.Г. и др.— М.: Энергоатомиздат, 1990.

4. Радиогеохимия в зоне влияния Чернобыльской АЭС / Соботович Э.В., Бондаренко Г.Н., Ольховик Ю.А., Кононенко Л.В. и др.— Киев: Наукова думка, 1992. 5. *Хэм А., Кормак Д.* Гистология: Пер. с англ.— Т.4.—

М.: Мир, 1983.

6. Adee R.R., Sanders C.L., Berlin J.D. // Health. Phys.-1968.— Vol.15.— P.461—463.

7. Diel J.H. // Radiat. Res.— 1978.— Vol.75.— P.348—

Heppleston A.G., Young A.E. // J. Pathol.— 1985.— Vol.146.— P.155—166.

9. Rhoads K., Mahaffey J.A., Sanders C.L. // Health. Phys.-1982.— Vol.42.— P.645—656.

10. Sanders C.L., Adee R.R. // Ibid. - 1970. - Vol. 18. - P.293 -

11. Sanders C.L. // Radiat. Res. - 1977. - Vol.70. - P.334-

Поступила 16.12.93

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1993

УДК 616-001.28-053.2-07:616.235-008.9-074:543.544

Ю.П.Рева, Е.И.Степанова, И.Е.Колпаков, Г.И.Квита, В.Э.Орел, Н.Н.Дзятковская, А.И.Горовой, В.А.Гудков, Н.Г.Захарьевич

применение метода триболюминесценции при ИССЛЕДОВАНИИ КОНДЕНСАТОВ ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА У ДЕТЕЙ, ПОДВЕРГШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ КОМПЛЕКСА ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ВСЛЕДСТВИЕ АВАРИИ НА ЧАЭС

Научно-производственный экологический центр «ЭНТОС» Института химической физики Российской Академии Наук

THE APPLICATION OF THE TRIBOLUMINESCENCE METHOD FOR THE INVESTIGA-TION OF AIR CONDENSATES, EXHALED BY CHILDREN, AFFECTED BY A COMPLEX OF ECOLOGICAL FACTORS AFTER CHERNOBYL KATASTROPHE

Yu.P.Reva, E.I.Stepanova, I.E.Kolpakov, G.I.Kvita, V.Z.Orel, N.N.Dzyatkovskaya, A.I.Gorovoy, V.A. Gudkov, N.G. Zaharievich.

Summary

The method of triboluminescence for an integral estimation of the functional condition of the children's respiratory system affected by a complex of ecological factors after Chernobyl katastrophe was applied. The non-respiratory function of the lungs was investigated by analysing the air condensates exhaled by 36 children at the age of 7-15 years. It was found that the kinetic parameters of triboluminescence of the condensates exhaled by the children, living in ecologically unequal areas may be different. The changes of these parameters may be caused by the activisation of the free oxygen radicals of the condensate components due to the radiation factors discovered in the zones exposed to the irradiation after Chernobyl katastrophe.