

*Казачков Е.Л., Белосохов М.В.*

## **Характеристика активности ядрышковых организаторов и генома клеток рака легкого, развившегося у работников плутониевого производства**

Кафедра патологической анатомии ГБОУ ВПО ЧелГМА Минздрава России, г. Челябинск.

*Kazachkov E.L., Belosohov M.V.*

## **Characteristic of the activity of the nucleolar organizers and cell genom of the lung cancer, developing in the organizms with incorporated plutonium**

### **Резюме**

Воздействие  $\alpha$ -облучения на клетку приводит к увеличению количества районов ядрышковых организаторов и их перераспределению в ядре, что является отражением повышения пролиферативной активности клеток рака легкого. При добавлении в уравнение регрессии значений накопленной дозы от  $\gamma$ -излучения значимых различий между группами работников плутониевого производства и реакторщиков выявлено не было, что свидетельствует об отсутствии существенного влияния внешнего облучения на пролиферативную активность клеток опухоли. Результаты исследования распределения районов ядрышковых организаторов и пloidности генома согласуются с данными литературы, свидетельствующими об усилении пролиферативной активности клеток рака легкого при увеличении пloidности, что отмечено в наблюдениях основной группы (работники плутониевого производства). По всей видимости, степень связи между напряженностью пролиферативной функции клетки рака легкого и ее пloidностью определяется в каждом случае особенностями этиологических факторов и патогенетических звеньев, ведущих к появлению и формированию очага неоплазии в легком.

**Ключевые слова:**  $\alpha$ -облучение,  $\gamma$ -облучение, рак

### **Summary**

The influence of the  $\alpha$ -rays on a cell leads to the increasing of the nucleolar organizer areas and their redistribution in the nuclear. All this is the result of the increasing of proliferative cancer cells activity in the lungs. While adding the regressive meanings of the accumulated  $\gamma$ -rays doze to the equation, important differences between the plutonium industry staff and reactor staff couldn,t be seen. All this shows the absence of the significant influence of the surface radiation on the proliferative activity of the tumor cells. The results of distribution of nucleolar organizer areas and genome ploidness correspond with the information in the literature which attests the increasing of proliferative activity of the lung cancer cells while the ploidness increasing, which is seen in the observation of the main group (plutonium industry staff). Seemingly, the degree of connection between the tension of proliferative function of the lung cancer cell and her ploidness is determined in each case by the peculiarities of the etiological factors and pathogenetic section leading to the appearance and formation of neoplasia foci in the lungs.

**Keywords:**  $\alpha$ -rays,  $\gamma$ -rays, cancer

### **Введение**

Канцерогенный эффект радиоактивных соединений является доказанным фактом [1-4]. Радионуклиды этих соединений характеризуются различными биологическими свойствами и степенью воздействия на структуры организма. Показано, что бластомогенное действие  $\alpha$ -излучателей реализуется при поглощенных дозах в легких, равных единицам-десятикам сантигрэй (сГр), в то время как для  $\beta$ -излучателей они составляют сотни и ты-

сячи сГр [5,6]. При этом наибольшая канцерогенность из всего ряда трансурановых элементов принадлежит плутонию [7,8].

Плутоний-239 ( $^{239}\text{Pu}$ ) считается наиболее перспективным энергоносителем. Одним из предпосылок к использованию плутония в качестве источника энергии является его высокая энергоемкость и огромные количества радионуклида, накопленные в процессе переработки отработанных ядерных материалов. При проведении

технологических работ неизбежен контакт персонала предприятия с соединениями радионуклида. Это диктует необходимость тщательного изучения стохастических и детерминированных эффектов  $\alpha$ -облучения  $^{239}\text{Pu}$  на биологические ткани в ходе производственной деятельности человека.

Основным путем поступления  $^{239}\text{Pu}$  в организм работника является ингаляционный [9]. Образующиеся в процессе производства газопылевые аэрозоли содержат частицы химических соединений  $^{239}\text{Pu}$  с другими элементами, которые с током воздуха достигают дистальных отделов легких. Здесь происходит их седиментация и частичная абсорбция в кровеносное русло. Основным эффектом инкорпорации  $^{239}\text{Pu}$  в легкие является повреждение структур аэрогематического барьера с последующим формированием здесь фокусов фиброза и развитием злокачественных эпителиальных новообразований [10,11].

На сегодняшний день имеется большое количество публикаций, посвященных радиационному канцерогенезу [12]. Вместе с тем, данные о морфологических особенностях рака легкого (РЛ), развившегося у работников радиационно-опасных производств, малочисленны и противоречивы [13,14]. Важнейшими свойствами, определяющими поведение опухоли, являются ее пролиферативная активность и степень генетической гетерогенности. В настоящем исследовании предпринята попытка изучения активности районов ядрышковых организаторов и повреждений генома в клетках пульмональной карциномы, развившейся в когорте персонала плутониевого производства.

## Материалы и методы

Осуществлен ретроспективный анализ медицинской документации и аутопсийного материала в 107 наблюдениях РЛ, развившегося у работников завода по производству  $^{239}\text{Pu}$ . Основную группу (1-я группа) составили 72 наблюдения пульмональной карциномы, развившейся у лиц, когда-либо работавших на плутониевом производстве. В группу сравнения (2-я группа) вошли 35 работников объектов по обслуживанию промышленных реакторов, не имевших инкорпорированного  $^{239}\text{Pu}$  в организме. Информация о профессиональном маршруте лиц, вошедших в группы исследования, а также данные дозиметрического контроля, были получены из базы медико-дозиметрического регистра Южно-Уральского института биофизики (ЮУрИБФ). Архивные парафиновые блоки карцином легких пре-доставлены радиобиологическим хранилищем тканей человека ЮУрИБФ. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 5-7 микрон, которые после депарафинирования окрашивали с помощью общепринятых прописей и методик [15]. Проводилась обзорная микроскопия, изучение слизиобразования в клетках РЛ (комбинированная окраска альциановым голубым и PAS-реакция), нейроэндокринной активности клеток опухоли (окраска по Гримеллиусу). Интерпретация гистологических типов РЛ проводилась в соответствии с Международной классификацией опухолей легких, плевры, тимуса и сердца ВОЗ [16].

Оценка активности районов ядрышковых организаторов (AgNORs, argyrophilic nucleolar organizer regions) и пролиферативной активности клеток легочной карциномы проводилась посредством импрегнации гистологических срезов 50% коллоидным раствором нитрата серебра [17]. Учет реакции проводили в 100 опухолевых клетках каждого среза при увеличении  $\times 1000$  с масляной иммерсией. В каждой клетке учитывалось количество и характер распределения AgNORs. Рассчитывались три параметра, описывающих клеточную популяцию в целом: среднее количество AgNORs на клетку, среднее количество ядрышек на клетку, среднее количество диспергированных AgNORs на клетку. Кроме того, в зависимости от характера распределения гранул серебра внутри ядер, выделяли 3 типа клеток: AgNORs-1, AgNORs-2 и AgNORs-3. AgNORs-1-тип характеризовался наличием гранул серебра только внутри ядрышек либо целиком покрашенных ядрышек. Для AgNORs-2 было характерно наличие гранул серебра как внутри ядрышек, так и свободно диспергированных в кариоплазме. Клетки AgNORs-3 имели только свободно расположенные в ядре депозиты серебра различных размеров и формы, при этом ядрышки не дифференцировались. Для каждого среза рассчитывалось процентное содержание клеток всех типов.

Микроспектрофотометрическая оценка плоидности генома и степени гетерогенности клеточных популяций проводилась на микропрепаратах РЛ, окрашенных по Фельгену. Этот метод обеспечивает полное соответствие уровня сорбированного красителя количеству молекул ДНК в ядре клетки. Обработку результатов проводили в соответствии с рекомендациями Г.Г. Автандилова [18]. Содержание ДНК в каждом ядре выражалось в абсолютных единицах по значению интегральной плотности ядра (ядер) клетки опухоли. За единицу «тканевого стандарта плоидности» принималась половина среднего значения интегральной плотности ядер малых лимфоцитов в том же срезе. Проллиферативная активность клон клеток опухоли устанавливалась по превышению среднего показателя диплоидного значения. Расчет значения индекса дисдифференцировки позволил судить о динамике изменения генома ядер клеток, их биологических и пролиферативных свойств [19]. Этот показатель определялся делением числа анеуплоидных ядер с плоидностью свыше 4с на количество тетраплоидных ядер, т.е. клеток, готовых к митозу. Анализ микропрепаратов и микрофотосъемка проводилась с помощью микро-скопа «Olympus-BX40» с видеокамерой «Olympus-DP11». Микроспектрофотометрия опухолевых клеток осуществлялась на микроскопе «Leica DMRXA» (Германия) с использованием программы анализа изображений «Diamorf\_Cito\_W» (Россия). Статистическая обработка полученных результатов проводилась по общепринятым методикам статистического анализа [20,21]. Статистическая значимость различий параметров определялась значением  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Сформированные группы исследования характеризовались однородностью состава. Группы

включили работников, принятых на предприятие в период 1948-64 гг. В годы отработки технологических процессов, когда отмечалось наиболее массивное поступление радионуклидов в организм (1949-57 гг.), приступили к трудовой деятельности 88,1% работников плутониевого завода и 73,5% лиц, обслуживающих реакторы. Абсолютное большинство наблюдений было представлено лицами мужского пола. Пик летальных исходов в обеих группах зарегистрирован в 1980-90 гг., т.е. почти через 30 лет от момента приема на работу. Смерть большинства мужчин 1-й группы наступала в возрастном интервале 51-70 лет, их средний возраст составил 59,2 лет (95%ДИ = 56,9-61,5).

Диапазон накопленных доз  $\gamma$ -облучения составил в основной группе 0,4-370,08 сГр, в среднем 50,07 сГр (95%ДИ = 24,17-75,97,  $\sigma$  = 104,85). При этом диапазон значений суммарной дозы  $\alpha$ -облучения легких инкорпорированным  $^{239}\text{Pu}$  был более значительным и составил 0,42-1716,71 сГр, в среднем 134,38 сГр (95%ДИ = 24,18-244,58,  $\sigma$  = 424,45). Количество всего инкорпорированного в организме  $^{239}\text{Pu}$  у регистрантов 1-й группы составило 0,03-102,75 кБк при среднем содержании 9,52 кБк (95%ДИ = 2,52-16,52,  $\sigma$  = 27,02). Лишь в 8,8% наблюдений было отмечено содержание  $^{239}\text{Pu}$  меньше предельно допустимого уровня. В легких содержалось 0,013-12,302 кБк, в среднем – 1,1 кБк (95%ДИ = 0,35-1,87). Наибольшая контаминация плутонием наблюдалась в период 1949-56 гг. В группе сравнения во всех наблюдениях имело место только внешнее  $\gamma$ -облучение персонала. Согласно полученным данным, накопленные дозы от внешнего облучения составили 5,17-375,20 сГр, в среднем – 85,96 сГр (95%ДИ = 59,36-112,56,  $\sigma$  = 80,22). Сравнение средних величин накопленных доз от внешнего облучения между группами исследования показало отсутствие статистически значимых различий.

Подробное описание профессионального маршрута в медицинских книжках позволило определить временной промежуток от начала контакта с радионуклидами до момента появления первых жалоб и регистрации новообразования в легком. За время начала контакта с радионизлучающими элементами условно была принята дата приема на работу на реакторы и объекты завода по производству  $^{239}\text{Pu}$ . Появление первых жалоб (кашель, одышка, дискомфорт и боли в грудной клетке), которые были обусловлены развитием опухоли в легком, наблюдалось у работников плутониевого завода в среднем через 28,9 лет (95%ДИ = 26,7-31,1), а верификация новообразования происходила в среднем через 29,2 лет (95%ДИ = 27,3-31,1). Интервал от верификации профессионального пневмосклероза в основной группе до регистрации опухоли был равен 13,3 годам (95%ДИ = 10,7-15,9). Продолжительность жизни пациента от момента выявления новообразования до летального исхода составила 1,4 года (95%ДИ = 0,9-1,9). РЛ у работников реакторов по сравнению с основной группой развивался достоверно позже. Первые жалобы пациентов группы сравнения, которые были связаны с пульмональной карциномой, появлялись в среднем через 33,9 года (95%ДИ = 29,7-38,1). Диагноз

РЛ в группе сравнения устанавливался через 34,8 лет (95%ДИ = 30,8-38,8) от начала работы на реакторе. Продолжительность жизни от момента верификации РЛ составила 0,8 года (95%ДИ = 0,3-1,3), причем более половины пациентов этой группы (54,5%) не пережили первый год с момента постановки диагноза.

У четверти пациентов 1-й группы имелись указания на проведенное оперативное лечение РЛ. Объем хирургического вмешательства соответствовал лобэктомии (12 наблюдений), пневмонэктомии (3) либо атипичной резекции сегмента легкого (3). При включении в комплексное лечение хирургического вмешательства уровень пятилетней выживаемости был значительно выше ( $p < 0,05$ ), но в целом не превышал 8,8%. Ни в одном наблюдении 2-й группы не предпринималось хирургического лечения легочной карциномы. Эпизодов пятилетней выживаемости в этой группе также не зарегистрировано.

Гистологическая верификация карцином была проведена в 68,1% наблюдений основной группы и в 54,3% – группы сравнения. Опухоли основной группы достоверно чаще имели железистую дифференцировку. Наиболее частым подтипом железистого РЛ являлась ацинарная аденокарцинома. В группе сравнения было зарегистрировано увеличение доли мелкоклеточного рака, однако внутри группы статистически значимых различий в преобладании опухолей той или иной гистоструктуры не выявлено. Изучение зависимости гистологического типа РЛ от анамнеза курения в исследуемых группах показало отсутствие какой-либо связи. Кроме того, в основной группе не было обнаружено связи между гистоструктурой опухоли и накопленной дозой (от внешнего и внутреннего облучения), а также количеством  $^{239}\text{Pu}$ , содержащегося в организме в целом и в легких, в частности. В группе работников реакторов была выявлена сильная положительная связь между уровнем накопленной дозы от  $\gamma$ -облучения и мелкоклеточным раком ( $r = 1,0$ ).

В большинстве наблюдений обеих групп клетки РЛ обладали признаками нейроэндокринной дифференцировки: 77,6% в группе работников плутониевого производства и 63,2% – в группе работников реакторов ( $p > 0,05$ ), что согласуется с данными других авторов, обнаруживших высокую частоту нейроэндокринной активности пульмональных карцином у лиц, испытывавших воздействие ионизирующего излучения [22]. Всего в 1-й группе нейроэндокринной дифференцировкой характеризовались 100% мелкоклеточных опухолей и 68% аденокарцином. В группе сравнения аргирофильные гранулы выявлялись в цитоплазме клеток в 75% мелкоклеточных ( $p < 0,05$ ) и 34% железистых карцином. В новообразованиях смешанного типа распределение клеток с нейроэндокринными гранулами имело некоторые особенности. В желези-сто-плоскоклеточных и плеоморфной карциномах аргирофильная зернистость в цитоплазме была присуща лишь клеткам, расположенным в железистом компоненте.

Импregnация препаратов коллоидным серебром выявила выраженную активность районов ядрышковых организаторов в клетках карцином работников завода по

производству плутония. Среднее содержание AgNORs-ассоциированных белковых гранул в клетках рака легкого пациентов 1-й группы составило 4,29 AgNORs/кл. (95%ДИ = 3,82-4,76), тогда как в клетках карцином лиц 2-й группы их было 3,78 AgNORs/кл. (95%ДИ = 3,43-4,13). Клетки карцином обеих групп различались также и по количеству интра-, и экстрануклеоларно расположенных организаторов в отдельности. В наблюдениях 1-й группы максимальные показатели содержания AgNORs регистрировались в клетках аденокарцином. Во 2-й группе белковосинтетическая функция была более выражена в клетках недифференцированных карцином. Распределение AgNORs в различных гистологических типах РЛ сравниваемых групп было также неодинаковым.

При сопоставлении результатов подсчета AgNORs в 1-й и 2-й группе было установлено, что экстрануклеоларные AgNORs в общем (клетки Ag-NOR-2 и AgNOR-3) достоверно преобладали в клетках плоскоклеточного рака основной группы и аденокарцином этой же группы. При этом среднее количество диспергированных (экстрануклеоларных) AgNORs в аденокарциномах основной группы было самым высоким.

Сопоставление результатов изучения содержания количества ядрышковых организаторов в клетках пульмональных карцином основной группы и показателей суммарных доз  $\alpha$ -облучения легких инкорпорированным плутонием выявило определенные тенденции в соотношении количества клеток с различным типом распределения AgNORs.

Изменение числа клеток, характеризующихся низкой интенсивностью белкового синтеза было обратно, а клеток, активно синтезирующих белок, - прямо пропорционально увеличению дозы  $\alpha$ -облучения. Регрессионный анализ показал, что при увеличении суммарной дозы на 1 Гр, происходит увеличение числа всех ядрышковых организаторов на 0,11 на клетку ( $R = 0,0011$ ,  $r = 0,3$ ). При этом увеличение суммарной дозы сопровождалось снижением в опухоли числа клеток типа AgNOR-1 ( $R = -0,0102$ ,  $r = -0,23$ ) и накоплением пула всех клеток с высоким уровнем рибосомального синтеза (AgNOR-2 и AgNOR-3) на 1,02 кл./Гр ( $R = 0,0102$ ,  $r = 0,23$ ).

При добавлении в уравнения регрессии значений накопленной дозы от гамма-излучения различий между моделями не было выявлено.

Наличие корреляций между числом хромосом и количеством ДНК позволили использовать результаты микроспектрофотометрии в качестве объективного теста для оценки плоидности и степени гетерогенности клеточных популяций. Статистически значимых морфометрических отличий клеток опухолей легких в группах наблюдения не выявлено. Не было выявлено различий в плоидности клеток РЛ между группами наблюдения. Однако особенностью карцином 1-й группы явилась более выраженная степень полиплоидии клеток каждого гистогенетического типа рака в сравнении с опухолями 2-й группы.

Высокая средняя плоидность была выявлена в клетках железистой (1-я группа) и мелкоклеточной карцином

(2-я группа). Клеткам указанных гистологических типов была также свойственна выраженная пролиферативная активность. Признаками динамично развивающихся опухолей обладали аденокарциномы 1-й и эпидермоидные опухоли 2-й групп, о чем свидетельствуют максимальные значения индекса дисдифференцировки.

Согласно данным плоидометрии, в основной группе больше половины всей популяции клеток плоскоклеточного и мелкоклеточного РЛ характеризовались гаплоидным набором хромосом и находились в процессе апоптоза. В аденокарциномах апоптоз был зарегистрирован лишь в 45% клеток. Полученные данные распределения долей клеток по фазам клеточного цикла хорошо согласуются с результатами анализа содержания ядрышковых организаторов, свидетельствующими о более высокой пролиферативной активности клеток аденокарцином основной группы и мелкоклеточного рака группы сравнения.

Было установлено, что при увеличении плоидности клеток синхронно увеличивалось и общее количество районов ядрышковых организаторов ( $R = 0,2$ ,  $r = 0,2$ ). При этом процесс полиплоидизации сопровождался уменьшением числа клеток с низким уровнем белкового синтеза (AgNOR-1,  $R = -3,2$ ,  $r = -0,3$ ) и увеличением доли всех высокоактивных клеток (AgNOR-2 и AgNOR-3,  $R = 3,2$ ,  $r = 0,3$ ). В группе сравнения увеличение плоидности генома не было связано с изменением общего количества районов ядрышковых организаторов ( $r = 0,0$ ).

Было проведено сопоставление данных плоидометрии клеток РЛ в наблюдениях основной группы с суммарной дозой  $\alpha$ -облучения легких инкорпорированным плутонием. Корреляционный анализ и построенные модели регрессии продемонстрировали отсутствие сколько-нибудь значимой связи между дозой облучения и характеристиками изменения генома. Хотя прирост дозы сопровождался снижением показателей пролиферативной активности и индекса дисдифференцировки клеток, эти изменения были крайне незначительными ( $R = -0,0004$ ,  $r = -0,2$  и  $R = -0,0007$ ,  $r = -0,3$ , соответственно).

## Заключение

Результаты изучения распространенности гистологических типов РЛ позволяют предположить, что развитие большинства немелкоклеточных опухолей в группе работников плутониевого производства обусловлено действием «мягкого»  $\alpha$ -излучения. Преобладание опухолей недифференцированного типа в группе работников реакторов может свидетельствовать о высокой повреждающей способности «жесткого»  $\gamma$ -излучения на клетки бронхо-альвеолярного эпителия. Этим же можно объяснить меньшее число немелкоклеточных карцином в группе лиц, задействованных на реакторном производстве: мощное повреждение клеточных структур вследствие воздействия  $\gamma$ -излучения приводит скорее к гибели эпителиоцита, нежели к его злокачественной трансформации. Согласно полученным данным, воздействие  $\alpha$ -облучения на клетку приводит к увеличению количества районов ядрышковых организаторов и их перераспределению в

ядре, что является отражением активации рРНК и повышения пролиферативной активности клетки [23,24]. При добавлении в уравнение регрессии значений накопленной дозы от  $\gamma$ -излучения значимых различий между группами выявлено не было, что свидетельствует об отсутствии существенного влияния внешнего облучения на пролиферативную активность клеток РЛ. Косвенным подтверждением этого служат данные об отсутствии влияния  $\gamma$ -излучения на легочный канцерогенез [3], а также низкий показатель избыточного относительного риска развития РЛ для  $\gamma$ -излучения (0,29/Гр) в сравнении с риском для  $\alpha$ -излучения (7,24/Лр) [1].

Результаты исследования распределения районов ядрышковых организаторов и плоидности генома согласуются с данными литературы, свидетельствующими об усилении пролиферативной активности клеток РЛ при увеличении плоидности [25,26], что отмечено в наблюдениях основной группы. В то же время, отдельные авторы отрицают наличие такой связи [27], что нашло свое отражение в наших наблюдениях группы сравнения. По всей видимости, степень связи между напряженностью

пролиферативной функции клетки РЛ и ее плоидностью определяется в каждом случае особенностями этиологических факторов и патогенетических звеньев, ведущих к появлению и формированию очага неоплазии в легком.

На основании изложенных данных нельзя исключить, что хромосомы 13, 14, 15, 21, 22-й пар, несущие районы ядрышковых организаторов, более «заинтересованы» в процессе анеуплоидизации, обусловленной воздействием  $\alpha$ -облучения инкорпорированным  $^{239}\text{Pu}$ . В то же время, нельзя отрицать наличие индуцирующего влияния  $\alpha$ -излучения на гены, кодирующие синтез протеинов, регулирующих процесс транскрипции AgNORs, – РНК-полимеразы I, белков C23, B23, 80K, 100K и фосфопротеина pp135.■

*Е.Л. Казачков, д.м.н., профессор, зав. кафедрой патологической анатомии ГБОУ ВПО ЧелГМА Минздрава России, г. Челябинск; М.В. Белосахов, к.м.н., Южно-Уральский институт биофизики, г. Озерск; Автор, ответственный за переписку: Е.Л. Казачков, 454052, г. Челябинск, а/я 6123, тел. 8(351)2320145; моб. +79123232974; e-mail: doctorkel@narod.ru*

## Литература:

1. Сокольников М.Э. Оценка канцерогенного риска в органах основного депонирования плутония-239 при ингаляционном поступлении промышленных соединений радионуклида: эпидемиологическое исследование [диссертация д-ра мед. наук] М.: 2004; 1-205.
2. Кошурикова Н.А., Креслов В.В., Болотникова М.Г. Смертность от рака легкого среди персонала ПО «Маяк». Радиация и риск 1995; 5:145-50.
3. Жунтова Г.В., Токарская З.Б., Беляева З.Д. Факторы риска рака легкого у работников атомного предприятия. Сб. трудов XIII Нац. конгр. по болезням органов дыхания. СПб.: 2003; 134.
4. Shilnikova N.S., Preston D.L., Ron E. Cancer mortality risk among workers at the Russian nuclear complex Mayak. Radiat Res. 2003; 159(6): 787-98.
5. Автандилов Г.Г. Современные представления об онкогенезе. Актуальные вопросы патологической анатомии: сб. науч. работ I Всерос. науч.-практ. конф. патологоанатомов. Орел: 2005; 205-8.
6. Иванов А.Е., Куршакова Н.Н., Соловьева А.И. Радиационный рак легкого. М.: Медицина; 1990.
7. Василенко И.Я. Состояние и перспектива исследований биологического действия малых доз радионуклидов. Биологические эффекты малых доз радиации: сб. науч. тр. М.: 1983; 49-55.
8. Нормы радиационной безопасности НРБ-76/87 и Основные санитарные правила работы с радиоактивными веществами и другими источниками ионизирующих излучений ОСП 72/87. Минздрав СССР: 3-е изд. М.: Энергоатомиздат; 1988.
9. Любчанский Э.Р., Булдаков Л.А. К экспериментальному обоснованию предельно допустимого содержания  $^{239}\text{Pu}$  в организме человека и в воздухе рабочих помещений. Распределение и биологическое действие радиоактивных изотопов: сб. статей. М.: 1966; 435-61.
10. Аристов В.П. Субмикроскопические изменения аэрогемагического барьера крыс после ингаляции некоторых соединений плутония-239 [диссертация канд. мед. наук]. М.: 1974; 1-248.
11. Калмыкова З.И., Нифатова А.П. Бластомогенная эффективность полимерного плутония-239 и мономерно америция-241 в зависимости от клинической картины поражения у собак. Отдаленные последствия и оценка риска воздействия радиации: тез. докл. Всесоюзной конф. М.: 1978; 96-7.
12. Коган Е.А., Сагиндикова Г.С., Секамова С.М., Жак Г. Морфологические, цитогенетические и молекулярно-биологические особенности рака легкого, развившегося у лиц, длительное время проживавших на радиоактивно-загрязненных территориях Семипалатинской области Казахстана. Архив патологии 2002; 5: 13-8.
13. Серебров А.И., Даницкая О.Л. Профессиональные новообразования. Л.: Медицина; 1976.
14. Tokarskaya Z.B., Okladnikova N.D., Belyaeva Z.D., Drozhko E.G. The influence of radiation and nonradiation factors on the lung cancer incidence among the workers of the nuclear enterprise Mayak. Health Phys. 1995; 69(3): 356-66.
15. Сапожников А.Г., Доросевич А.Е. Гистологическая и микроскопическая техника: руководство. Смоленск: САУ; 2000.
16. Travis W.D., Brambilla E., Muller-Hermeling H.K., Harris C.C. Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. Lyon: 2004.
17. Crocker J., Nar P. Nucleolar organizer regions in lymphomas. J. Pathol. 1987; 151: 111-8.
18. Автандилов Г.Г. Плоидометрическая диагностика функционального состояния гепатоцитов в области воздействия плазменного луча. Клинич. персп. гастронэнт., гепат. 2004; 1: 2-6.
19. Автандилов Г.Г. Индекс клональной пролиферации и его изменения в процессе озлокачествления ткани (по данным цитофотометрии ДНК). Вопр. онкологии 2000; 46(4): 423-6.
20. Гланц С. Медико-биологическая статистика: пер. с англ. М.: Практика; 1999.
21. Сырцова Л.Е., Косаговецкая И.И., Авксентьева М.В. Основы эпидемиологии и статистического анализа в общественном здоровье и управлении здравоохранением: уч. пособие. М.: 2003.
22. Ogura S., Abe S., Sukoh N. Correlation between

- nucleolar organizer regions visualized by silver staining and the growth rate in lung adenocarcinoma. *Cancer* 1992; 70(1): 63-8
23. Крокер Д. Молекулярная клиническая диагностика: методы: пер. с англ. М.: Мир; 1999.
24. Oliveira M.G., Silva-Lauxen I., Neto M.M. Tongue squamous cell carcinoma: relationships between argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNORs) and histopathologic grading. *Appl. cancer res* 2005; 25(1): 20-4.
25. Gasinska A., Biesaga B., Kolodziejcki L., Slonina D. Measurement of DNA ploidy and proliferation rate in lung tumours by bromodeoxyuridine labeling index, S-phase fraction and AgNOR technique. *Pol. j. pathol.* 1996; 47(4): 201-7.
26. Pinto A.E., Monteiro P., Silvae G. Prognostic biomarkers in renal cell carcinoma: relevance of DNA ploidy in predicting disease-related survival. *Int. J. Biol. Markers* 2005; 20(4): 249-56.
27. Lee Y.C., Chern J.H., Li W.Y. AgNORs in lung cancer: correlation with DNA ploidy and degree of differentiation. *Anal. quant. cytol. histol.* 1997; 19(3): 271-6.