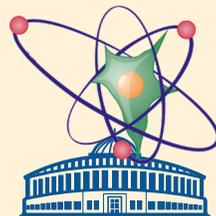


Российская академия наук
Объединенный институт ядерных исследований



АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ РАДИАЦИОННОЙ БИОЛОГИИ. МОДИФИКАЦИЯ РАДИАЦИОННО- ИНДУЦИРОВАННЫХ ЭФФЕКТОВ

Международная конференция

Дубна, 16–18 октября 2024 г.

ОБЪЕДИНЕННЫЙ ИНСТИТУТ ЯДЕРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

**АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ
РАДИАЦИОННОЙ БИОЛОГИИ.
МОДИФИКАЦИЯ РАДИАЦИОННО-
ИНДУЦИРОВАННЫХ ЭФФЕКТОВ**

Дубна, 16–18 октября 2024 г.

Материалы конференции

Дубна 2024

Организаторы конференции:
Научный совет РАН по радиобиологии
Радиобиологическое общество РАН
Лаборатория радиационной биологии ОИЯИ

Оргкомитет конференции

Сопредседатели:

Красавин Е.А., чл.-корр. РАН, председатель Научного совета РАН по радиобиологии, ЛРБ ОИЯИ

Ушаков И.Б., акад. РАН, президент Радиобиологического общества РАН, ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России

Ответственные секретари:

Найдич В.И., к.х.н., Научный совет РАН по радиобиологии

Кошлань И.В., к.б.н., ЛРБ ОИЯИ

Члены оргкомитета:

Аклев А.В., д.б.н., Уральский НПЦ радиационной медицины ФМБА России

Абдуллаев С.А., д.б.н., ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России

Борейко А.В., д.б.н., ЛРБ ОИЯИ

Бугай А.Н., д.ф.-м.н., ЛРБ ОИЯИ

Васильев С.А., д.б.н., НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ

Гераськин С.А., д.б.н., ВНИИ радиологии и агроэкологии

Гребенюк А.Н., д.м.н., Санкт-Петербургский гос. химико-фармацевтический университет

Замулаева И.А., д.б.н., МРНЦ им. А.Ф. Цыба Минздрава РФ

Москалев А.А., чл.-корр. РАН, ИБ Коми НЦ УрО РАН

Рождественский Л.М., д.б.н., ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России

Тахауов Р.М., д.м.н., Северский биофизический НЦ ФМБА России

Филимонова М.В., д.б.н., МРНЦ им. А.Ф. Цыба Минздрава РФ

Штемберг А.С., д.б.н., ИМБП РАН

Черняев А.П., д.ф.-м.н., физический ф-т МГУ им. М.В. Ломоносова

A43 **Актуальные** проблемы радиационной биологии. Модификация радиационно-индуцированных эффектов: Междунар. конф. (Дубна, 16–18 окт. 2024 г.): Матер. конф. — Дубна: ОИЯИ, 2024. — 244 с.

ISBN 978-5-9530-0628-6

В сборнике представлены материалы международной конференции «Актуальные проблемы радиационной биологии. Модификация радиационно-индуцированных эффектов». Обсуждаются фундаментальные основы модифицирующего влияния факторов физической и химической природы на радиационно-индуцированные эффекты в клетках с различным уровнем организации генома, в радиационной медицине и космической радиобиологии. Обращено внимание на фундаментальные основы поиска противолучевых средств, направленных на снижение уровня повреждающего действия радиации и смягчение медико-биологических последствий облучения; совершенствование лучевой терапии опухолей — модификацию радиационных эффектов облучения с помощью факторов химической, физической и биологической природы; решение проблем радиационной безопасности космических полетов.

Тезисы публикуются в авторской редакции.

Содержание

ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ

ИСТОРИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ ПРОТИВОЛУЧЕВЫХ СРЕДСТВ	13
<i>А.Н. Гребенюк, О.Ю. Стрелова</i>	
МОДИФИКАЦИЯ РАДИАЦИОННЫХ ЭФФЕКТОВ НА РАЗНЫХ УРОВНЯХ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ	16
<i>С.А. Гераськин</i>	
РАЗРАБОТКА ЭКСТРАПОЛЯЦИИ ЭФФЕКТИВНЫХ ДОЗ РАДИОПРОТЕКТОРОВ С ЖИВОТНЫХ НА ЧЕЛОВЕКА С ПОМОЩЬЮ БИОМАРКЕРОВ	18
<i>Л.М. Рождественский, Ю.А. Федотов</i>	
К ВОПРОСУ О ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ОСНОВАХ ПОИСКА ПРОТИВОЛУЧЕВЫХ СРЕДСТВ	21
<i>М.В. Филимонова</i>	
КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ РАДИАЦИОННЫХ И НЕРАДИАЦИОННЫХ ФАКТОРОВ МЕЖПЛАНЕТНОГО ПОЛЕТА: НЕЙРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ, ВЗАИМОМОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ	23
<i>А.С. Штемберг, А.А. Перевезенцев, А.Г. Беляева, К.Б. Лебедева-Георгиевская, О.С. Кузнецова</i>	

ДОКЛАДЫ

<i>NIGELLA SATIVA</i> – МОДУЛЯТОР РАДИОИНДУЦИРОВАННЫХ ЭФФЕКТОВ	26
<i>С.А. Абдуллаев, Д.В. Фомина, Н.Ф. Раева, Г.Д. Засухина</i>	
ИМПУЛЬСНОЕ МАГНИТНОЕ ПОЛЕ МОДИФИЦИРУЕТ ГЕНОТОКСИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ГАММА-ИЗЛУЧЕНИЯ В КЛЕТКАХ МЕРИСТЕМЫ КОРНЯ ЛУКА	28
<i>А.Е. Алдибекова, Е.А. Пряхин</i>	
УСИЛЕНИЕ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ДНК МЕТАЛЛОПОРФИРИНАМИ	31
<i>Л.Р. Алоян, А.А. Аветисян</i>	
ПОСТУПЛЕНИЕ РАДИОНУКЛИДОВ В АТМОСФЕРУ МОЖЕТ БЫТЬ СВЯЗАНО С ДЕСТРУКЦИЕЙ ФИТОПЛАНКТОНА В ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ В УСЛОВИЯХ РАДИОАКТИВНОГО И ХИМИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ	33
<i>С.С. Андреев, Н.И. Атаманюк, А.А. Перетыкин, Е.А. Пряхин</i>	

ВОСПРОИЗВЕДЕНИЕ МОДЕЛИ РАДИАЦИОННОГО ДЕРМАТИТА, ИНДУЦИРОВАННОГО ПРОТОННЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ, НА МЫШАХ ЛИНИИ SHK, C57BL/6 И BALB/C	36
<i><u>В.А. Аникина, С.С. Сорокина, А.Е. Шемяков, Н.Р. Попова</u></i>	
ВЛИЯНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ПРЕПАРАТА МЕЛЬДОНИЯ И ЭТИЛМЕТИЛГИДРОКСИПИРИДИНА СУКЦИНАТА НА РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОВЕДЕНИЯ У МЫШЕЙ	39
<i><u>Н.И. Атаманюк, Н.А. Обвинцева, Е.А. Пряхин</u></i>	
РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПРОВосПАЛИТЕЛЬНЫХ И РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В ОРГАНАХ ДЫХАНИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ В ПОСТРАДИАЦИОННЫЙ ПЕРИОД ПОСЛЕ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ	42
<i><u>М.Ю. Баранцева, Л.Н. Мухамедиева, Д.С. Озеров, А.В. Шафиркин</u></i>	
О ВОЗМОЖНОСТИ МОДИФИЦИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ЛУННОЙ ПЫЛИ НА ЭФФЕКТЫ РАДИАЦИИ У КОСМОНАВТОВ ПРИ ОСВОЕНИИ ЛУНЫ	45
<i><u>В.А. Баринов, И.Б. Ушаков</u></i>	
ПОВРЕЖДЕНИЕ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА ПРИ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ И СПОСОБЫ ЕГО ЗАЩИТЫ	48
<i><u>Е.М. Белоус</u></i>	
МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ АРАЦ ПРИ ОБЛУЧЕНИИ ПРОТОНАМИ КЛЕТОК КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА В УСЛОВИЯХ <i>IN VIVO</i> И <i>EX VIVO</i> НА РОСТ СОЛИДНОЙ ОПУХОЛИ У МЫШЕЙ	51
<i><u>Т.А. Белякова, О.М. Розанова, Е.Н. Смирнова, Н.С. Стрельникова, Е.А. Красавин, А.В. Борейко</u></i>	
МОДИФИКАЦИЯ ПЕРВИЧНОЙ РАДИАЦИОННОЙ ТОКСЕМИИ ПУТЕМ ЧАСТИЧНОГО ЭКРАНИРОВАНИЯ ЧАСТЕЙ ТЕЛА КАК ВАЖНЫЙ КОМПОНЕНТ ПОТЕНЦИРОВАНИЯ ПРОТИВОЛУЧЕВЫХ СВОЙСТВ РАДИОПРОТЕКТОРОВ	54
<i><u>М.В. Васин, И.Б. Ушаков</u></i>	
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ РАДИАЦИОННО-ХИМИЧЕСКОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗА	56
<i><u>Н.Н. Вьякина, Е.А. Медведева</u></i>	
РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ РАБОТНИКОВ ОБЪЕКТОВ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ	58
<i><u>Т.В. Вишневская, М.Ю. Цыпленкова, Д.С. Исубакова, О.С. Цымбал, И.В. Мильто, Р.М. Тахауов</u></i>	
СТОХАСТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ПРОЦЕССОВ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ПЛАТИНЫ В ОПУХОЛЕВЫХ ТКАНЯХ	61
<i><u>Д.А. Гиневский, П.В. Ижевский</u></i>	

ОЦЕНКА ПРОТИВОЛУЧЕВЫХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА Б-190 ПРИ СОЧЕТАННОМ ПРИМЕНЕНИИ С МОНИЗОЛОМ ПРИ МЕСТНЫХ ЛУЧЕВЫХ ПОРАЖЕНИЯХ	63
<i>В.Д. Гладких, Н.В. Баландин</i>	
FLASH-ОБЛУЧЕНИЕ ПРОТОНАМИ СНИЖАЕТ РАДИАЦИОННОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ ЭМБРИОНОВ <i>COTURNIX JAPONICA</i> В СРАВНЕНИИ С КОНВЕНЦИОНАЛЬНЫМ РЕЖИМОМ ОБЛУЧЕНИЯ	65
<i>С.И. Глухов, И.А. Яковлев, Е.А. Кузнецова, В.В. Мартынова, Г.В. Мерзликін, Ю.К. Гаврилов, Д.А. Коконцев, С.В. Акулиничев</i>	
ОСОБЕННОСТИ РАДИОЗАЩИТНОГО ЭФФЕКТА ЭКЗОГЕННОГО ПЕРОКСИРЕДОКСИНА 6 ПРИ ЛЕТАЛЬНОМ ОБЛУЧЕНИИ МЫШЕЙ γ -ИЗЛУЧЕНИЕМ НИЗКОЙ МОЩНОСТИ	67
<i>Р.Г. Гончаров, Е.Е. Карманова, В.О. Кобялко, А.Н. Павлов, В.И. Брусков, В.И. Новоселов, М.Г. Шаранов</i>	
ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКИ ДЕЙСТВУЮЩЕГО ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СИГНАЛЫ РАСТЕНИЙ И ИХ РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ УСТОЙЧИВОСТИ К СТРЕСС-ФАКТОРАМ	70
<i>М.А. Гринберг, Ю.А. Немцова, А.В. Иванова, П.А. Пирогова, В.А. Воденев</i>	
МОДЕЛЬ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ БЛИЖАЙШИХ РЕЗУЛЬТАТОВ ХИМИОЛУЧЕВОГО ЛЕЧЕНИЯ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА ШЕЙКИ МАТКИ	72
<i>В.Р. Гусарова, А.О. Якимова, А.В. Салпагарова, Б.В. Бойко, Л.С. Мкртчян, Л.И. Крикунова, И.А. Замулаева</i>	
ДАЗАТИНИБ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ РАДИОСЕНСИБИЛИЗАТОР ОПУХОЛЕВЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА ЛИНИИ МСФ-7	75
<i>Д.О. Гутникова, В.Г. Шуватова, Д.А. Шапошникова</i>	
ВЛИЯНИЕ ТИАМИНА НА РАДИОЗАЩИТНУЮ ЭФФЕКТИВНОСТЬ НАФАЗОЛИНА ИЛИ ИНДРАЛИНА В ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА МЫШАХ	78
<i>О.А. Данилова, Т.В. Шефер</i>	
ИССЛЕДОВАНИЕ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ХЛОПЧАТНИКА, ВЫЗВАННОЙ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЕМ	81
<i>Э.С. Джафаров, А.А. Тагиев, И.Ч. Зейналова, М.З. Велиджанова</i>	
О РАДИОМИТИГАТОРНЫХ СВОЙСТВАХ АИКАР	84
<i>М.В. Душенко, Д.В. Фомина, Н.Ф. Раева, С.А. Абдуллаев</i>	
МЕХАНИЗМЫ ПОВЫШЕННОЙ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ	86
<i>И.А. Замулаева</i>	

БЕЛОК ТИХОХОДОК DSUP (DAMAGE SUPPRESSOR): ЕСТЕСТВЕННЫЙ МЕХАНИЗМ РАДИОПРОТЕКЦИИ 89

М.П. Зарубин, Е.В. Кравченко, Т.Н. Муругова, О.И. Ивановько, Ю.Е. Горшкова, Е.В. Андреев, А.Н. Нечаев, П.Ю. Апель

СВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ С ПОВЫШЕННОЙ ЧАСТОТОЙ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ 91

Д.С. Исубакова, О.С. Цымбал, Т.В. Вишневская, М.Ю. Цыпленкова, А.В. Кирейкова, Н.В. Литвяков, И.В. Мильто, Р.М. Тахауов

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ФРАКЦИОНИРОВАННОГО РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ И ИММОБИЛИЗАЦИИ НА ПОВЕДЕНИЕ САМЦОВ И САМОК МЫШЕЙ ЛИНИИ С57В1/6 94

Е.М. Кадукова, Н.Н. Веялкина

ОЦЕНКА АНТИОКСИДАНТНОЙ И РАДИОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРОДУКТА, ПОЛУЧАЕМОГО В РАМКАХ РЕАЛИЗАЦИИ КОСМИЧЕСКОГО ЭКСПЕРИМЕНТА (КЭ) «ПРОБИОВИТ» 97

А.И. Кобатов, Д.Г. Польшцев, И.И. Савин, А.Н. Гребенюк, Н.А. Верлов, И.А. Кулаков, В.С. Бурдаков

ИССЛЕДОВАНИЕ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ЭРИТРОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ МЫШЕЙ ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ОБЛУЧЕННЫХ И НЕОБЛУЧЕННЫХ ЖИВОТНЫХ КАК МОДЕЛЬ МОДИФИЦИРУЮЩЕГО ВЛИЯНИЯ НА ПОСТРАДИАЦИОННОЕ ВОССТАНОВЛЕНИЕ 100

И.Н. Козарко, В.В. Петушкова, О.В. Ктиторова, Е.А. Пряхин, И.И. Ганеев

ПОВЫШЕНИЕ МОДИФИЦИРУЮЩЕГО ЭФФЕКТА АРАБИНОЗИД ЦИТОЗИНА ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ 103

Р.А. Кожина, Е.А. Кузьмина, С.И. Тиунчик, Т.З. Фам, В.Н. Чаусов, А.В. Борейко

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ МОЛГРАМОСТИМА ПРИ РАДИАЦИОННОМ ПОРАЖЕНИИ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ) 106

А.Ю. Кондаков, Д.В. Ремизов, И.С. Драчев, В.С. Кудряшов, П.В. Тихомиров

ИССЛЕДОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ ФТОРИДА ЦЕРИЯ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ ФЛАВИНМОНОНУКЛЕОТИДОМ, ДЛЯ ЦЕЛЕЙ РЕНТГЕНОВСКОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ 109

А.И. Корниенко, М.П. Шевелева, В.Е. Иванов, Н.Р. Попова

ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК КИТАЙСКОГО ХОМЯЧКА ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ В ПРИСУТСТВИИ БОРСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ 112

Е.В. Корякина, У.М. Корнеева, М.В. Трошина, А.А. Пичкунова, С.Н. Корякин, С.А. Успенский

ПРОФИЛАКТИКА ОСЛОЖНЕНИЙ ФРАКЦИОНИРОВАННОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ НОВООБРАЗОВАНИЙ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ <i>IN VIVO</i>	115
<i>А.О. Косаченко, В.А. Рыбачук, К.А. Николаев, Л.И. Шевченко, О.В. Солдатова, А.А. Шитова, С.Н. Корякин, А.С. Филимонов, М.В. Филимонова</i>	
ВЛИЯНИЕ ПУТИ ПОСТУПЛЕНИЯ ЦИСТАМИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ЕГО ФАРМАКОКИНЕТИКИ	117
<i>С.Ю. Краев, И.С. Драчев, А.Б. Селезнев, Д.В. Цой, О.И. Алешина</i>	
НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НАРУШЕНИЙ МЕТАБОЛИЗМА МОНОАМИНОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ ГРЫЗУНОВ ВСЛЕДСТВИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ МОДЕЛЬНЫХ ФАКТОРОВ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА	120
<i>О.С. Кузнецова, П.Л. Наплекова, К.Б. Лебедева-Георгиевская, А.С. Штемберг</i>	
СПОСОБ КОМПЕНСАЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ РАДИАЦИОННОГО ПОРАЖЕНИЯ ОРГАНИЗМА МЛЕКОПИТАЮЩИХ	123
<i>А.В. Куликов, А.А. Глазков, В.Б. Гаврилюк, Л.В. Архипова, Д.А. Куликов</i>	
ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ГАЗОВЫДЕЛЕНИЯ ПОЛИМЕРНЫМИ КОМПОЗИЦИОННЫМИ МАТЕРИАЛАМИ С ТЕРМОРЕАКТИВНЫМИ И ТЕРМОПЛАСТИЧНЫМИ СВЯЗУЮЩИМИ, ДЕСТАБИЛИЗИРОВАННЫМИ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЕМ	125
<i>П.В. Лащук, Л.Н. Мухамедиева</i>	
ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТОВ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ В СОЧЕТАНИИ С ХИРУРГИЧЕСКИМ ИССЕЧЕНИЕМ ЛУЧЕВЫХ ЯЗВ КОЖИ ПРИ ТЕРАПИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕСТНЫХ РАДИАЦИОННЫХ ПОРАЖЕНИЙ У КРЫС	128
<i>В.Г. Лебедев, Ю.Б. Дешевой, Т.А. Насонова, О.А. Добрынина, Т.А. Астрелина</i>	
ГЕНОТОКСИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ НТО И ³ Н-ТИМИДИНА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ПОСТУПЛЕНИИ В ОРГАНИЗМ КРЫС С ПИТЬЕВОЙ ВОДОЙ И ОБЪЕМНОЙ АКТИВНОСТИ 200 кБк/л	131
<i>А.А. Максимов, С.М. Роднева, Е.С. Жорова, Г.С. Тищенко, Л.П. Сычева, Ю.А. Федотов, А.А. Цицинати, Д.В. Гурьев, В.Г. Барчуков</i>	
ИЗМЕНЕНИЕ УЛЬТРАФИОЛЕТ-ИНДУЦИРОВАННОГО ЛУЧЕВОГО И ПОСТЛУЧЕВОГО ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В КЛЕТКАХ МСФ-7 ЭКСТРАКТАМИ ИЗ ЛИШАЙНИКОВ	133
<i>М.В. Матвеев, В.М. Шемелев</i>	
ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ СНИЖЕНИЯ УРОВНЯ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ПРИ ПРОЛОНГИРОВАННОМ ОБЛУЧЕНИИ МЫШЕЙ НЕЙТРОНАМИ	135
<i>Е.Ю. Москалева, А.Н. Романцова, А.С. Журник, И.В. Чешигин</i>	

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЯБЛОЧНОЙ, АСКОРБИНОВОЙ И ЯНТАРНОЙ
КИСЛОТ НА РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫЙ ОКСИДАНТНЫЙ
СТРЕСС В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК A549 138

А.А. Московский, Л.А. Ромодин

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ
СНИЖЕНИЯ ПОБОЧНЫХ ЭФФЕКТОВ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ 141

*Е.В. Мурзина, Н.В. Аксенова, О.Е. Миргородская, Д.Р. Слуцкая, Е.Д. Ермакова,
Е.И. Федорос, А.С. Симбирцев, Г.А. Софронов*

ЛАБИЛЬНОСТЬ СИСТЕМЫ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ
ТКАНИ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПОСТУПЛЕНИИ
Cs137 144

*Н.С. Мышковец, А.С. Бабенко, О.С. Логвинович, А.В. Литвинчук, А.Н. Коваль,
Л.Н. Алексейко, Ф.А. Лахвич*

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ПИТАНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ
НА ИНТАКТНЫХ И ОБЛУЧЕННЫХ МЫШАХ 147

*О.В. Никитенко, Т.М. Бычкова, Т.А. Караулова, И.М. Парфенова,
И.Е. Андрианова, А.А. Иванов*

ИНГИБИТОРЫ СИНТАЗ ОКСИДА АЗОТА КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ
СРЕДСТВА ЭКСТРЕННОЙ ПРОТИВОЛУЧЕВОЙ ЗАЩИТЫ ПРИ
КОСМИЧЕСКИХ ПЕРЕЛЕТАХ 150

*К.А. Николаев, В.А. Рыбачук, А.О. Косаченко, Л.И. Шевченко,
О.В. Солдатова, А.А. Шитова, И.К. Волкова, С.Н. Корякин,
А.С. Филимонов, М.В. Филимонова*

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНГИБИТОРА NOS INOS-A В КАЧЕСТВЕ
СРЕДСТВА ПРОФИЛАКТИКИ ОСТРЫХ ЛУЧЕВЫХ ПОРАЖЕНИЙ КОЖИ,
ИНДУЦИРОВАННЫХ ПРОТОННЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ 152

*К.А. Николаев, В.А. Рыбачук, А.О. Косаченко, Л.И. Шевченко,
О.В. Солдатова, А.А. Шитова, И.К. Волкова, С.Н. Корякин,
А.С. Филимонов, М.В. Филимонова*

ВЛИЯНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ПРЕПАРАТА МЕЛЬДОНИЯ И
ЭТИЛМЕТИЛГИДРОКСИПИРИДИНА СУКЦИНАТА НА ПОКАЗАТЕЛИ
ИММУНИТЕТА И ГЕМОПОЭЗА У МЫШЕЙ ПРИ
ФРАКЦИОНИРОВАННОМ ОБЛУЧЕНИИ 154

Н.А. Обвинцева, Н.И. Атаманюк, Е.А. Пряхин

ПОРОГОВЫЕ ДОЗЫ ДЛЯ ОСТАТОЧНЫХ ФОКУСОВ БЕЛКОВ
РЕПАРАЦИИ ДНК 157

*А.А. Осипов, А.К. Чигасова, О.В. Белов, Е.И. Яшкина, М.А. Игнатов,
Ю.А. Федотов, Н.Ю. Воробьева, А.Н. Осипов*

ИССЛЕДОВАНИЕ И ТЕРАПИЯ ИЗМЕНЕНИЙ В ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ
СИСТЕМЕ ГРЫЗУНОВ, ВОЗНИКАЮЩИХ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ПУЧКА
ИОНОВ ^{12}C , МОДЕЛЬНОЙ МИКРОГРАВИТАЦИИ И ХРОНИЧЕСКОГО
ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ 160

*А.А. Перевезенцев, Вик.В. Яснецов, К.Б. Лебедева-Георгиевская,
А.С. Штемберг*

КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ И ЕСТЕСТВЕННЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ПРЭСНОВОДНЫХ МОЛЛЮСКОВ	162
<i>А.А. Перетыкин, Е.А. Пряхин</i>	
РЕЗИСТЕНТНЫЕ К ОБЛУЧЕНИЮ НА ГАММА-НОЖЕ КЛЕТКИ ГЛИОБЛАСТОМ ЧЕЛОВЕКА	165
<i>А.А. Пиневиц, И.Ю. Крутецкая, Н.Л. Вартамян, М.П. Самойлович</i>	
ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ РАЗДЕЛЬНОГО И СОЧЕТАННОГО ДЕЙСТВИЯ ОБЛУЧЕНИЯ И СВИНЦА НА АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС ЯЧМЕНЯ	168
<i>А.А. Празян, А.С. Смирнова, А.С. Ханова, С.В. Битарцивили, Е.М. Шестерикова, Е.С. Макаренко, М.А. Лыченкова, С.А. Гераськин</i>	
ВЛИЯНИЕ ЛИПОСОМАЛЬНОГО рчАФП НА СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ПРИ РАДИАЦИОННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ	170
<i>Е.А. Пряхин, Н.И. Атаманюк, Н.А. Обвинцева, Ю.И. Остроумов, П.С. Шмелин</i>	
ПОВЫШЕНИЕ ВЫЖИВАЕМОСТИ ОБЛУЧЕННЫХ НЕЙРАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК МЫШИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ЭКЗОСОМ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА	173
<i>М.Г. Ратушняк, Д.А. Шапошникова, Г.А. Посыпанова, Е.Ю. Москалева</i>	
ПРИМЕНЕНИЕ РАДОНОТЕРАПИИ ПРИ ТРАВМЕ СПИННОГО МОЗГА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)	176
<i>В.Ф. Ренс</i>	
ВЫБОР СХЕМЫ ВВЕДЕНИЯ ИНГИБИТОРА РЕЦЕПТОРА КСФ-1 ДЛЯ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННОГО НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ	179
<i>А.В. Родина, А.С. Журник, О.Д. Смирнова, О.В. Высоцкая, Д.А. Шапошникова, Е.Ю. Москалева</i>	
СРАВНЕНИЕ РАДИОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ МЕДНОГО ХЛОРОФИЛЛИНА, ТРОЛОКСА, РИБОКСИНА И ИНДРАЛИНА ПРИ ОСТРОМ ОБЛУЧЕНИИ МЫШЕЙ	182
<i>Л.А. Ромодин, О.В. Никитенко, Т.М. Бычкова, Ю.А. Зрилова</i>	
ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОИЗВОДНОГО ИЗОТИОМОЧЕВИНЫ В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВА ПРОФИЛАКТИКИ ЛУЧЕВЫХ СИАЛОДЕНИТА И ОРАЛЬНОГО МУКОЗИТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ <i>IN VIVO</i>	185
<i>В.А. Рыбачук, А.О. Косаченко, К.А. Николаев, Л.И. Шевченко, А.А. Шитова, О.В. Солдатова, О.С. Измestьева, И.К. Волкова, А.С. Филимонов, М.В. Филимонова</i>	
ИССЛЕДОВАНИЕ РАДИОМОДИФИЦИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ НООТРОПНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА МЕЛКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ	187
<i>Ю.С. Северюхин, К.Н. Голикова, Д.М. Утина, И.А. Колесникова, М. Лалковичева, Е.В. Пронских, Н.Н. Буденная, А.А. Иванов, А.Г. Молоканов, В.Н. Гаевский</i>	

АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ
ФЕРМЕНТОВ В ПОПУЛЯЦИЯХ *PÍNUS SYLVÉSTRIS L.* ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ
ЗОНЫ ОТЧУЖДЕНИЯ 189

А.С. Смирнова, А.С. Ханова, С.А. Гераськин

МОДЕЛИРОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ДОЗ ПРИ
НЕЙТРОНОЗАХВАТНОЙ ТЕРАПИИ СРЕДСТВАМИ СИСТЕМЫ
ПЛАНИРОВАНИЯ ДИСТАНЦИОННОЙ НЕЙТРОННОЙ ТЕРАПИИ
НА БАЗЕ ГЕНЕРАТОРА НГ-24МТ 191

А.Н. Соловьев, Я.В. Кизилова

ПРОТОННАЯ ТЕРАПИЯ: ВЛИЯНИЕ НА ПОВЕДЕНИЕ И
МИКРОГЛИАЛЬНЫЙ СТАТУС МЫШЕЙ 194

С.С. Сорокина, А.Е. Мальков, А.Е. Шемяков, О.М. Розанова, Е.Н. Смирнова

ЧАСТОТА ДОМИНАНТНЫХ ЛЕТАЛЬНЫХ МУТАЦИЙ У *DROSOPHILA
MELANOGASTER* ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ
ИОНИЗИРУЮЩЕГО И НЕИОНИЗИРУЮЩЕГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ
ИЗЛУЧЕНИЙ 196

Е.В. Стяжкина, Ю.Р. Ахмадуллина, Ю.В. Гайнетдинова, Е.А. Пряхин

ВОЗДЕЙСТВИЕ ОБЛУЧЕНИЯ ИОНАМИ УГЛЕРОДА ¹²C
НА ЗРИТЕЛЬНОМОТОРНОЕ ПОВЕДЕНИЕ ОБЕЗЬЯН 199

*Л.В. Терешенко, Ю.В. Бородачева, Л.С. Жиганов, Э.Р. Иمامев,
А.В. Латанов*

ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ 3D-ПЕЧАТНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ
ГЕНИСТЕИНА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОГО РАДИОЗАЩИТНОГО
СРЕДСТВА 201

В.В. Тихонова, О.Ю. Стрелова, А.Н. Гребенюк

ВЫЖИВАЕМОСТЬ И ИНДУКЦИЯ АБЕРРАЦИЙ ХРОМОСОМ В КЛЕТКАХ
КИТАЙСКОГО ХОМЯЧКА ПРИ ОДНОКРАТНОМ И СОЧЕТАННОМ
ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНАМИ УГЛЕРОДА И ПРОТОНАМИ 203

*М.В. Трошина, Е.В. Корякина, В.И. Потетня, В.О. Сабуров, А.Н. Соловьев,
В.А. Пикалов, С.Н. Корякин*

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ И ДРУГИХ
НЕРАДИАЦИОННЫХ ФАКТОРОВ НА СОСТОЯНИЕ КРОВЕТВОРЕНИЯ
В ГОЛОВНОЙ ПОЧКЕ У ПЛОТВЫ (*RUTILUS RUTILUS*)
В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN SITU* 205

М.В. Тюхай, Г.А. Тряпицына, Е.А. Пряхин

ХИМИЧЕСКИЕ ТРАНСФОРМАЦИИ 5-АНДРОСТЕНДИОЛА КАК ПУТЬ
СОЗДАНИЯ СРЕДСТВ ПРОТИВОЛУЧЕВОЙ ЗАЩИТЫ НОВОГО
ПОКОЛЕНИЯ 208

*М.Е. Успенская, М.Н. Соколов, В.В. Рожков, А.Н. Усенко, Т.А. Федотчева,
Н.Л. Шимановский, В.М. Ржезников*

ВОЗМОЖНОСТИ РАДИОСЕНСИБИЛИЗАЦИИ ОПУХОЛЕЙ НАНОЧАСТИЦАМИ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ПРИМЕРЕ НАНОЧАСТИЦ ВИСМУТА	210
<i>М.В. Филимонова, А.А.Шитова, О.В. Солдатова, А.С. Филимонов, В.А. Рыбачук, А.О. Косаченко, К.А. Николаев, Г.А. Демьяшкин, А.А. Попов, И.В. Зелепукин, А.В. Кабашии, С.М. Деев, И.Н. Завестовская, С.Н. Корякин</i>	
ПРИЖИЗНЕННАЯ ОЦЕНКА НАКОПЛЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА В ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ МЕТОДОМ КОМПЬЮТЕРНОЙ ТОМОГРАФИИ НА ЭТАПЕ ПЛАНИРОВАНИЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ	213
<i>Ю.А. Финогенова, В.А. Скрибицкий, К.Е. Шпакова, А.А. Липенгольц</i>	
ВЛИЯНИЕ ФРАКЦИОНИРОВАННОГО ОБЛУЧЕНИЯ В МАЛОЙ ДОЗЕ НА АКТИВНОСТЬ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В НОРМАЛЬНЫХ И ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ КЛЕТКАХ	215
<i>Д.В. Фомина, С.А. Абдуллаев, Н.Ф. Раева, Г.Д. Засухина</i>	
ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА СИНТЕЗА ДНК АРАБИНОЗИД ЦИТОЗИНА НА ФОРМИРОВАНИЕ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫХ ДР ДНК В НОРМАЛЬНЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ	218
<i>Т.С. Храмоко, М.Е. Крупнова, Н.В. Пахомова, Д.Д. Шамина, А.В. Ясинская, А.В. Борейко</i>	
ОЦЕНКА СТЕПЕНИ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ <i>GNAS, RABL6, RHOD</i> ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ РАДИАЦИОННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ	220
<i>О.С. Цымбал, Т.В. Вишневская, М.Ю. Цыпленкова, Д.С. Исубакова, Н.В. Литвяков, И.В. Мильто, Р.М. Тахауов</i>	
СУБКОЛЛЕКЦИЯ ГЕНОМНОЙ ДНК ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ БАНКА БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА СЕВЕРСКОГО БИОФИЗИЧЕСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА	223
<i>М.Ю. Цыпленкова, О.С. Цымбал, Т.В. Вишневская, Д.С. Исубакова, А.В. Кирейкова, И.В. Мильто, Р.М. Тахауов</i>	
ОЦЕНКА ДЕПРЕССИВНОПОДОБНОГО СОСТОЯНИЯ У МЫШЕЙ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ФРАКЦИОНИРОВАННОМ ГАММА-ОБЛУЧЕНИИ	225
<i>И.А. Шапошникова, Н.И. Атаманюк, Н.А. Обвинцева, Е.А. Пряхин</i>	
К ОПРЕДЕЛЕНИЮ КОЭФФИЦИЕНТА МОДИФИКАЦИИ (КМ ₀) ОТДАЛЕННЫХ РАДИАЦИОННЫХ ЭФФЕКТОВ У КОСМОНАВТОВ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНЫХ ОРБИТАЛЬНЫХ ИЛИ МЕЖПЛАНЕТНЫХ ПОЛЕТОВ ЗА СЧЕТ ДЕЙСТВИЯ НЕЛУЧЕВЫХ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ В КОСМИЧЕСКОМ ПОЛЕТЕ (КП)	228
<i>А.В. Шафиркин, А.Л. Васин</i>	
НОВОЕ МУЛЬТИТАРГЕТНОЕ ПРОИЗВОДНОЕ ИЗОТИУРОНИЯ ПОВЫШАЕТ ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАДИОТЕРАПИИ	231
<i>А.А. Шитова, О.В. Солдатова, А.С. Филимонов, К.А. Николаев, В.А. Рыбачук, А.О. Косаченко, И.К. Волкова, Л.И. Шевченко, М.В. Филимонова</i>	

НОВЫЕ АСПЕКТЫ УЧАСТИЯ ПРОЦЕССОВ ОКИСЛЕНИЯ
В ФОРМИРОВАНИИ ПОСЛЕДСТВИЙ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩИХ
ИЗЛУЧЕНИЙ В МАЛЫХ ДОЗАХ 234

Л.Н. Шишкина, М.В. Козлов

АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ СПИРУЛИНЫ, АКТИВИРУЕМОЙ
ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИЕЙ, В КАЧЕСТВЕ
НЕЙРОПРОТЕКТОРНОГО СРЕДСТВА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ
НИЗКОДОЗОВОГО РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ 236

В.М. Щемелев, Н.В. Чуешова

ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СОРБЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ
ДЛЯ УСТАНОВЛЕНИЯ ФАКТА ПОРАЖЕНИЯ РАДИОНУКЛИДАМИ
ЛИЧНОГО СОСТАВА ВС РФ 239

М.А. Юдин, А.М. Свенцицкая, А.В. Аксенов

СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗА СНИЖАЕТ СТЕПЕНЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ
ДЕСТРУКЦИИ РЕТИНОИДОВ В КЛЕТКАХ СЕТЧАТКИ И
РЕТИНАЛЬНОГО ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ ГЛАЗА МЫШИ ПРИ
ДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ 242

М.А. Яковлева, Д.М. Утина, Т.Б. Фельдман, М.А. Островский

ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ

ИСТОРИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ ПРОТИВОЛУЧЕВЫХ СРЕДСТВ

А.Н. Гребенюк^{1,2}, О.Ю. Стрелова¹

¹ Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,
Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова,
Санкт-Петербург, Россия
e-mail: grebenyuk_an@mail.ru

Резюме. Наиболее интенсивно поиск радиозащитных средств проводился в 50-70-е годы XX века. Несмотря на огромное количество исследованных химических соединений, реальное признание в качестве радиопротекторов получили единичные препараты. Дальнейшие перспективы связаны с разработкой радиомитигаторов, радиозащитных рецептур и новых лекарственных форм противолучевых средств, средств для лечения побочных эффектов и осложнений химиолучевой терапии, с поиском радиозащитных препаратов среди растительных средств.

Ключевые слова: облучение, противолучевые средства, радиопротектор, радиомитигатор, химиолучевая терапия.

HISTORY AND PROSPECTS ON ANTIRADIATION AGENTS DEVELOPMENT

A.N. Grebenyuk^{1,2}, O.Yu. Strelova¹

¹ Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

² Pavlov St. Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, St. Petersburg, Russia
e-mail: grebenyuk_an@mail.ru

Summary. The search for radioprotectors was most intensively conducted in the 50-70s of the XX century. Despite the huge number of studied chemical compounds, the real recognition as radioprotectors was given to single medicines. Further prospects are connected with the development of radiomitigators, radioprotective compositions and new pharmaceutical forms of antiradiation agents, means for the treatment of side effects and complications of chemoradiation therapy, search for radioprotective agents among substances of plant nature.

Key words: irradiation, antiradiation agents, radioprotector, radiomitigator, chemoradiation therapy.

Согласно устоявшимся представлениям, под радиозащитными препаратами понимаются, главным образом, синтетические химические вещества, введение которых до или во время облучения повышает радиорезистентность организма и обеспечивает снижение тяжести лучевого поражения. Сфера применения радиозащитных средств изначально была связана, прежде всего, с чрезвычайными ситуациями радиационной природы – применением ядерного оружия, радиационными авариями и катастрофами, при которых формируются поражающие дозы радиации, для защиты от которых и требовалось создание соответствующих лекарственных препаратов.

Значимым импульсом для начала разработки радиозащитных средств послужила атомная бомбардировка японских городов Хиросима и Нагасаки в августе 1945 года, в результате которой около 100 тыс. человек погибли в ближайшие часы после нанесения ядерного удара и примерно такое же количество людей было поражено радиацией с формированием острой лучевой болезни, местных и комбинированных лучевых поражений. В 1949 году в Арагонской лаборатории Н. Патт с соавторами было показано, что аминокислота цистеин, введенная перед облучением, защищает животных от

действия летальных доз рентгеновского излучения [1]. С этого момента наступила эра поиска и разработки лекарственных средств, прежде всего, радиопротекторов, способных снизить тяжесть лучевого поражения и защитить организм человека (и животных) от лучевой гибели. Пик этих исследований пришелся на 50-70-е годы XX века, основные и наиболее успешные из них были выполнены научными группами под руководством Р. Alexander в Великобритании, З.М. Vacq в Бельгии, Н. Langendorff в Германии. Результатом этих исследований стало изучение более 3000 химических соединений, но практически все они оказались менее эффективны и/или более токсичны, чем β -меркаптоэтиламин и γ -аминопропиламиноэтилтиофосфорная кислота.

СССР также включился в гонку по созданию радиозащитных препаратов, для чего в ряде научных учреждений, прежде всего, в Институте биофизики, Военно-медицинской академии и Медицинском радиологическом научном центре были созданы соответствующие научно-исследовательские лаборатории. Значительный вклад в создание отечественных радиозащитных средств внесли научные группы под руководством А.С. Мозжухина, П.Г. Жеребченко, П.П. Саксонова и др. В результате этих исследований были разработаны цистамин, мексамин, индралин и некоторые другие радиозащитные средства.

Несмотря на значительные усилия и достигнутые успехи в поиске радиозащитных средств, в настоящее время спектр реально существующих препаратов этого класса весьма ограничен. По сути, в качестве радиопротекторов в настоящее время могут рассматриваться лишь Б-190 (индралин) и WR-2721 (Amifostine, Ethylol) [2–4]. Плюс к этому активно продолжается разработка перспективных радиопротекторов из класса обратимых ингибиторов NO-синтазы в ряду S-[2-алкил(арил)сульфонил]-производных S-этил(винил)-изотиомочевины, в частности препарата T1023 [5]. Связано это не только с низкой эффективностью периодически появляющихся новых радиозащитных средств по сравнению с существующими препаратами, но и с ограниченностью спектра их применения и незначительной востребованностью потенциальными заказчиками.

В то же время, для профилактики и лечения лучевых поражений применяется значительно больше лекарственных препаратов, а не только классические радиозащитные средства / радиопротекторы: средства экстренной и ранней патогенетической терапии (радиомитигаторы), средства профилактики и купирования первичной реакции на облучение, средства профилактики и лечения поражений от инкорпорированных радионуклидов, местных лучевых поражений и др.

На наш взгляд, перспективы дальнейших исследований по поиску и разработке новых противолучевых средств могут быть связаны со следующими направлениями:

- переход от радиопротекторов к радиомитигаторам – средства, применяемые для лечения поражений (в особенности в первые часы и сутки после облучения), имеют значительно больший потенциал востребованности, чем профилактические препараты;
- создание радиозащитных рецептур, позволяющих суммировать/потенцировать противолучевую эффект, снизить токсичность, побочные эффекты отдельных препаратов;
- разработка новых лекарственных форм существующих радиозащитных средств с целью повышения биодоступности и пролонгации противолучевого эффекта;
- поиск потенциально активных противолучевых средств среди существующих лекарственных препаратов и веществ / препаратов растительной природы;
- переориентация акцента исследований с чрезвычайных ситуаций радиационной природы на лучевую и химиолучевую терапию опухолей («от атомной бомбы к мирной медицине») – количество онкологических заболеваний растет, лучевые и химиолучевые методы их лечения имеют побочные эффекты, которые необходимо предотвращать (профилактическое применение радиопротекторов) и/или лечить (лечебное применение радиомитигаторов и других противолучевых средств – антиэметиков и т.п.).

1. Patt HM, Tyree EB, Straube RL, Smith DE. Cysteine protection against X-irradiation. *Science*. 1949, 110, 213-214.
2. Singh VK, Romaine PLP, Newman VL, Seed TM. Medical countermeasures for unwanted CBRN exposures: part II radiological and nuclear threats with review of recent countermeasure patents. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 2016, 26(12), 1399-1408; <https://doi.org/10.1080/13543776.2016.1231805>.
3. Гребенюк А.Н., Гладких В.Д. Современное состояние и перспективы разработки лекарственных средств для профилактики и ранней терапии радиационных поражений. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2019, 59(2), 132-149; <https://doi.org/10.1134/S0869803119020085>.
4. Obrador E, Salvador R, Villaescusa JI, Soriano JM, Estrela JM, and Montoro A. Radioprotection and Radiomitigation: From the bench to clinical practice. *Biomedicines*. 2020, 8, 461; <https://doi.org/10.3390/biomedicines8110461>.
5. Filimonova MV, Makarchuk VM, Shevchenko LI, Saburova AS, Surinova VI, Izmetieva OS et al. Radioprotective Activity of the Nitric Oxide Synthase Inhibitor T1023. *Toxicological and Biochemical Properties, Cardiovascular and Radioprotective Effects*. *Radiation Research*. 2020, 194(5), 532-543; <https://doi.org/10.1667/RADE-20-00046.1>.

МОДИФИКАЦИЯ РАДИАЦИОННЫХ ЭФФЕКТОВ НА РАЗНЫХ УРОВНЯХ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ

С.А. Гераськин

НИЦ «Курчатовский институт» – ВНИИРАЭ, Обнинск, Россия

e-mail: stgeraskin@gmail.com

Резюме. В докладе рассмотрены закономерности и механизмы модификации радиобиологических эффектов на разных уровнях биологической организации. Ответная реакция на клеточном и организменном уровне зависит как от состояния генома, этапа онтогенеза, физиологического состояния и истории предыдущих воздействий, так и от внешних факторов. Совокупность этих факторов может вести как к усилению, так и к ослаблению радиационных эффектов. На высших уровнях биологической организации (популяционном, экосистемном) в ответную реакцию на облучение вовлекаются все более сложные биологические и экологические механизмы, не сводящиеся к реакциям на клеточном и организменном уровнях.

Ключевые слова: ионизирующее излучение, адаптация, эпигенетика, популяции, экосистемы

MODIFICATION OF RADIATION EFFECTS AT DIFFERENT LEVELS OF BIOLOGICAL ORGANIZATION

S.A. Geras'kin

Russian Institute of Radiology and Agroecology of NRC "Kurchatov Institute", Obninsk, Russia

e-mail: stgeraskin@gmail.com

Summary. The report examines the patterns and mechanisms of radiobiological effects modification at different levels of biological organization. The response at the cellular and organismal level depends both on their genome, stage of ontogenesis, physiological state and history of previous influences, as well as external factors. The combination of these factors can lead to either an increase or a decrease in radiation effects. At higher levels of biological organization (population, ecosystem), the response to radiation involves increasingly complex biological and ecological mechanisms that are not limited to reactions at the cellular and organismal levels. Constant anthropogenic impact includes genetic mechanisms, the result of which is evolution aimed at increasing resistance to the impact. An analysis of the consequences of radiation accidents has shown that the effect of environmental factors can be much more significant than direct radiation exposure.

Key words: ionizing radiation, adaptation, epigenetics, populations, ecosystems

В докладе рассмотрены закономерности и механизмы модификации радиобиологических эффектов на разных уровнях биологической организации. Ответная реакция на клеточном и организменном уровне зависит как от состояния генома, этапа онтогенеза, физиологического состояния и истории предыдущих воздействий, так и от вида и интенсивности внешнего воздействия. Чем ниже доза, тем большее влияние на ответную реакцию оказывают генетические и эпигенетические механизмы, а также факторы окружающей среды. Совокупность этих факторов может вести как к усилению, так и к ослаблению радиационных эффектов. Синергические и антагонистические эффекты наиболее часто регистрируются при сочетании низких доз и концентраций действующих факторов. Более того, в этих условиях нелинейные эффекты вносят существенный вклад в ответную реакцию биологических объектов. Причем увеличение числа действующих на организм стрессоров резко угнетает развитие и снижает выживаемость, даже если каждый из стрессоров в отдельности не оказывает существенного влияния на эти показатели.

На высших уровнях биологической организации (популяционном, экосистемном) в ответную реакцию на облучение вовлекаются все более сложные биологические и экологические механизмы, не сводящиеся к реакциям на клеточном и организменном уровнях. Типичными реакциями растительного ценоза на облучение в высокой дозе являются снижение видового разнообразия, изменение доминантности видов, уменьшение продуктивности растений и изменение структуры сообщества. Радиационные эффекты в экосистемах принято делить на первичные и вторичные. Первичные радиационные эффекты зависят от радиочувствительности составляющих экосистемы видов и, в зависимости от дозы, могут изменяться от незначительного торможения развития до гибели организмов и экосистемы в целом. Вторичные радиационные эффекты объединяют разные по природе процессы, связанные с индуцированным излучением рассогласованием функциональных связей между компонентами биоценоза. Причем во многих ситуациях экологические факторы могут оказывать гораздо более значительное влияние, чем прямое радиационное воздействие.

Постоянно действующее антропогенное воздействие включает генетические механизмы, результатом работы которых является направленная на повышение устойчивости к действующему фактору эволюция. При этом высокие мощности дозы хронического облучения ведут к отбору на эффективность систем репарации, а низкие – к поддержанию оксидативного баланса, экспрессии шаперонов и контролю транспозиции МГЭ. Феномен радиоадаптации был обнаружен в исследованиях на разных объектах – древесных и травянистых растениях, почвенных водорослях, мышевидных грызунах, микроорганизмах. Аналогичная реакция проявляется в популяциях на длительное воздействие разных факторов – ТМ, пестицидов и др. Механизмы – отбор (на клеточном и организменном уровнях) на повышение эффективности систем репарации, изменение модели генной экспрессии, усиление синтеза антиоксидантов и других защитных веществ, пониженный уровень рекомбинации и повышенный – метилирования генома. Выявляется путем сравнения реакции на дополнительное острое облучение организмов из контрольной и импактной популяции.

Радиоадаптация является комплексным процессом, в котором задействованы разные экологические механизмы и уровни биологической организации. Возможности и темпы адаптации природных популяций к повышенным уровням радионуклидного загрязнения определяются двумя группами факторов:

- пластичностью вида (занимаемой экологической нишей, чувствительностью к радиационному воздействию, способом размножения, структурно-функциональным состоянием генома и др.);
- спецификой радиоэкологических условий обитания, определяющей дозовые нагрузки от внешнего и внутреннего облучения, наличием в среде обитания дополнительных экологических факторов, способных модифицировать радиационные эффекты. Однако существует целый ряд причин того, что эффект радиоадаптации не обнаруживается в природных популяциях.

В целом, модификация радиационных эффектов происходит на разных уровнях биологической организации, причем на каждом уровне организации существуют специфичные механизмы модификации такого рода эффектов.

РАЗРАБОТКА ЭКСТРАПОЛЯЦИИ ЭФФЕКТИВНЫХ ДОЗ РАДИОПРОТЕКТОРОВ С ЖИВОТНЫХ НА ЧЕЛОВЕКА С ПОМОЩЬЮ БИОМАРКЕРОВ

Л.М. Рождественский, Ю.А. Федотов

Государственный научный центр – Федеральный медицинский биофизический центр
им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия
e-mail: lemrod@mail.ru

Резюме. Настоящее сообщение построено на анализе предложенных способов экстраполяции эффективных доз индралина с животных разных видов на человека. Анализ показал, что преобладающий в разных методических указаниях и обобщающих монографиях подход, основанный на представлении о ведущей роли основного обмена в экстраполяции доз протектора с животных на человека и использовании для этого интерполяционной формулы Лагранжа, не позволяет получить адекватные оценки искомой величины. Использование с указанной целью биомаркера (снижения напряжения свободного кислорода в тканях организма, ΔpO_2) позволяет не только произвести адекватную экстраполяцию указанных данных, но и проводить оценку непосредственно на человеке без радиационного воздействия. Есть основания полагать, что в качестве аналогичного биомаркера для индралина могут быть использованы показатели артериального давления и частоты пульса. Наконец, биомаркеры эффективности радиопротектора могут быть использованы для экстраполяции данных не с 3-х и более видов животных, а с 1 вида.

Ключевые слова: экстраполяция/ интерполяция экспериментальных данных. интерполяционная формула Лагранжа, биомаркеры эффективности противолучевых средств

ELABORATING EFFECTIVE DOSES OF RADIOPROTECTORS SINCE ANIMALS TILL A HUMAN BEING BY MEANS OF BIOMARKERS

L.M. Rozhdestvensky, Yu.A. Fedotov

State scientific center – A.I. Burnazyan Federal medical biophysical center of FMBA
of Russia, Moscow, Russia
e-mail: lemrod@mail.ru

Summary. There are different means of radioprotectors effective doses extrapolation since animals till a human being. The mainly recognized method of extrapolation proceeds from the assumption of the metabolism rate as base principle and uses the Lagrange interpolating equation for the unknown quantity estimation. The sole calculation of radioprotector indralin ED-50 for human, presented in Indralin monographe (1994), gave the result 1,6 mg/kg. However we found the mistake in ED-50 used for different species. Our calculation in the same equation with correcting ED-50 gave unadequite (negative) estimation. This circumstance raises a question about the leading role of metabolism rate in extrapolating experimental data on animals to a human being. The different method of extrapolation with usage of biomarker ΔpO_2 measured in bone marrow and connective tissue at dogs and rats after indralin and mexamine injection permitted to receive adequate ED-50 estimation for human. Besides we found that effects of indralin on arterial pressure and pulse rate can be used as biomarkers of indralin radioprotective effectiveness.

Key words: extrapolation/ interpolation of experimental data, Lagrange interpolating equation, biomarkers of antiradiation means effectiveness

В настоящее время радиобиология противолучевых средств прошла период поиска новых препаратов и должна сконцентрироваться на разработке как комбинаций наиболее эффективных противолучевых средств (ПЛС), так и их комбинаций с корректирующими побочные эффекты препаратами (необходимо подключение фармакологов). Наиболее перспективными направлениями исследований представляются: а) разработка

комбинации 2-х наиболее эффективных представителей 2-х основных групп ПЛС: индралина (радиопротектор/оксидомодулятор) и беталейкина (радиомодификатор/иммуномодулятор) в опытах на собаках (имеется задел на мышах – А.Н. Гребенюк, В.И. Легеза); б) разработка применения состояния гипбернации для консервации тяжелого радиационного поражения с целью выигрыша времени для подготовки иммунологически совместимого клеточного материала для лечения пациента после его вывода из состояния гипобиоза (имеется экспериментально-теоретический задел – Н.Н. Тимофеев, А.С. Самойлов, И.Б. Ушаков); в) использование феномена повышенной эффективности кислородного эффекта в экстраординарные сроки его применения (имеется задел – С.П. Ярмоненко, Л.М. Рождественский).

Большой сложностью для внедрения ПЛС в практику радиационной медицины является недостаточная разработанность экстраполяции экспериментальных данных с животных на человека. Наиболее приемлемым способом экстраполяции считается расчет эффективной дозы по принципу ведущей роли основного обмена (В.Г. Владимирев, Т.К. Джаракьян 1976). Непосредственный способ расчета эффективной дозы при таком подходе был разработан в отношении индралина путем использования интерполяционной формулы Лагранжа (В.И. Сусликов 1978, 1994). Полученная им оценка ЕД-50 индралина для человека составила 1,6 мг/кг. При проверке адекватности произведенного расчета нами было выявлено несоответствие использованных ЕД-50 для мышей, крыс и собак данным, приведенным в той же монографии «Индралин – радиопротектор экстренного действия...» 1994, расчет по которым по формуле Лагранжа дал результаты, существенно не совпадающие с приведенным выше значением 1,6 мг/кг. Так как тем же автором были произведены расчеты по оценке равноэффективных доз холинолитиков у животных и человека с удовлетворительной сходимостью результатов по той же формуле Лагранжа и с использованием показателей, величины которых связаны с основным обменом у млекопитающих, то мы пришли к заключению о не связанности действия α -адреномиметика индралина (в отличие от холиномиметиков) с основным обменом и о неприемлемости применения формулы Лагранжа для расчета равноэффективной дозы индралина для человека по данным на 3-х видах животных.

Далее были сопоставлены оценки экстраполяции на человека ЕД-50 и ЕД-90 индралина с использованием, с одной стороны, экспериментальных оценок этих показателей по тесту выживаемости у 5 видов животных (мышь, хомяк, крыса, кролик, собака), а с другой стороны, оценок изменений биомаркера ΔpO_2 в костном мозгу и подкожной клетчатке у интактных крыс и собак на срок, соответствующий началу облучения. При этом в случае использования биомаркера получали зависимость его изменений от дозы индралина и для экстраполяции на человека брали значения, эквивалентные ЕД-50 или ЕД-90 (в дозовую кривую вставляли значения ЕД-50 или ЕД-90, полученные по тесту выживаемости). Экстраполяцию данных и по значениям ЕД, и по значениям биомаркера, эквивалентным ЕД, осуществляли по лог зависимости от усредненной массы тела (кг) для вида (мышь 0,022, крыса 0,225, собака 15, человек 75). При указанном сопоставлении были получены следующие экстраполяционные оценки для человека: ЕД-50 – $1,9 \pm 0,5$; ЕД-90 – $3,8 \pm 0,8$; ΔpO_2 , эквивалентное ЕД-50 – $1,8 \pm 0,1$; ΔpO_2 , эквивалентное ЕД-90 – $2,9 \pm 0,01$. Как видно из представленных оценок значения, полученные при экстраполяции ЕД оказываются сомнительными (отрицательная оценка для ЕД-90, большой разброс оценок для ЕД-50). В то же время, результаты с использованием биомаркера ΔpO_2 оказались достаточно адекватными, но малая нагруженность точек требует продолжения этих исследований. Указанная оценка экстраполяционных значений ЕД для человека по биомаркеру ΔpO_2 получила косвенное подтверждение при использовании в качестве биомаркера показателя измеренного на наркотизированных собаках среднединамического кровяного давления и его зависимости от дозы индралина. Была отмечена тесная корреляция между показателями изменения артериального давления и ΔpO_2 под влиянием индралина. Сопоставление этих изменений с дозовой зависимостью АД от дозы

в/м индралина у человека позволили оценить экстраполируемую для человека дозу ЕД-50 в размере 1,9 мг/кг, а дозу ЕД-90 в размере 2,7 мг/кг.

Полученные оценки ЕД -50 для человека по биомаркеру ΔpO_2 требуют пересмотра доз индралина при в/м введении для человека при воздействии радиации. Кроме того, несмотря на учащение проявлений брадикардии и даже брадиаритмии у человека при дозах индралина выше 1,6 мг/кг в/м, надо ставить вопрос о возможности использования индралина на уровне ЕД-90 в исключительных ситуациях (вход пожарных в зону с высокой мощностью излучения в Чернобыле). Конечно, здесь последнее слово за врачами, но учитывая молодой контингент таких бригад, и вынужденный риск тяжелого радиационного поражения в таких ситуациях, постановка этого вопроса правомочна.

К ВОПРОСУ О ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ОСНОВАХ ПОИСКА ПРОТИВОЛУЧЕВЫХ СРЕДСТВ

М.В. Фильмонова^{1,2}

¹Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба (МРНЦ им. А.Ф. Цыба) – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии»

Министерства здравоохранения Российской Федерации, Обнинск, Россия

²Обнинский институт атомной энергетики – филиал федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Обнинск

e-mail: mari_fil@mail.ru

Резюме. Успешная реализация проблемы поиска, разработки и выведения на рынок противолучевых средств в значительной степени зависит от сбалансированной заинтересованности разработчиков, руководителей профильных научных и производственных предприятий, и государственных структур.

Ключевые слова: противолучевые средства, радиомитигаторы, радиомодификаторы

TO THE QUESTION OF THE FUNDAMENTAL PRINCIPLES OF SEARCHING FOR ANTI-RADIATION MEANS

M.V. Filimonova^{1,2}

¹A. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation (A. Tsyb MRRC), Obninsk, Russia

²Obninsk Institute of Nuclear Energy – branch of the Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "National Research Nuclear University "MEPhI", Obninsk

e-mail: mari_fil@mail.ru

Summary. The successful implementation of the problem of searching, developing and bringing to market anti-radiation agents largely depends on the balanced interest of developers, heads of specialized scientific and industrial enterprises, and government agencies.

Key words: radioprotective agents, radiomitigators, radiomodifiers.

Многие аспекты деятельности человечества тесно связаны с применением различных видов ионизирующих излучений. Со времён открытий В.К. Рентгена отношение к радиации менялось волнообразно – от восторженного стремления использовать максимально возможными способами до испуга и отторжения. Последняя (очередная?) мощная волна отторжения преимуществ использования атомной энергии прокатилась после аварии на Фукусимской атомной станции в 2011 г. В настоящее время мы наблюдаем осторожные попытки вернуться к строительству и эксплуатации атомных станций как надёжного и безопасного для окружающей среды источника энергии.

Подобные волны интереса прослеживаются и в разработке противолучевых средств. С тех пор как в 1949 году в Арагонской лаборатории Н.М. Ратт и соавторами продемонстрировали радиозащитную эффективность цистеина, интерес к этой области стремительно возрос. За последующие 25 лет десятки тысяч соединений были подвергнуты химико-фармакологическому скринингу в ходе поиска эффективных противолучевых средств.

В СССР основными «тремя китами» таких поисков, нередко совместных, были Институт биофизики Минздрава СССР (ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России), Военно-медицинская академия (СПб) и Институт медицинской радиологии АМН СССР (Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба, Обнинск). Важным фактором успеха было участие в этих разработках созданного в начале 60-х годов химико-

фармацевтического отдела ИБФ (г. Химки, ныне НПЦ «Фармзащита»). Результатом интенсивной работы этого периода стал перечень средств, часть которых достигли статуса лекарственных препаратов, включённых в РЛС (цистамин, мексамин, индралин, ферроцин, калия йодид, дезоксинат, пентацин, латран), часть осталась на стадиях разработок (индометафен, альгисорб, РС-10), а часть – в идеях и экспериментах (Т1023, идеи лаборатории радиационной фармакологии МРНЦ, В.Ю. Ковтуна).

В последние пару десятилетий под терминами «radiation protection», «радиозащитные, противолучевые средства и радиомитигаторы» подразумевали широкий спектр проблем, в том числе таких, как stakeholders. Так, межправительственным Агентством ОЭСР по ядерной энергии (NEA) в 2001 году была создана Экспертная группа по процессу вовлечения заинтересованных сторон (Expert Group on the Process of Stakeholder Involvement in Radiation Protection Decision Making). На каждом международном мероприятии, посвящённом проблемам радиации, теме stakeholders была отведена отдельная секция, целью которой было согласование вопросов, касающихся применения радиации, с общественным мнением.

Кроме того, нередко под понятием «radiation protection» подразумевалось исследование возможных рисков для пациентов и персонала при выполнении процедур, связанных с использованием медицинского оборудования.

В настоящее время ощущается стремительный разворот интереса учёных и госструктур к области противолучевых средств. Потенциально, это приведёт к появлению зарегистрированных противолучевых средств, в том числе двойного назначения – с возможностью их применения в смежных областях фармакологии и медицины.

Тем более, что ряд весьма интересных и перспективных противолучевых средств либо остался на этапах разработок, либо подвис, имея даже регистрацию в РЛС. Причины: незаинтересованность либо отсутствие финансирования со стороны государственных структур, сложность в распределении прав собственности, неэффективное и непродуктивное принятие решений о масштабировании производства и реализации продукции.

Вывод: успешная реализация проблемы поиска, разработки и выведения на рынок противолучевых средств в значительной степени зависит от сбалансированной заинтересованности разработчиков, руководителей профильных научных и производственных предприятий, и государственных структур.

**КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ РАДИАЦИОННЫХ И НЕРАДИАЦИОННЫХ
ФАКТОРОВ МЕЖПЛАНЕТНОГО ПОЛЕТА:
НЕЙРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ, ВЗАИМОМОДИФИЦИРУЮЩЕЕ
ВЛИЯНИЕ**

*А.С. Штемберг, А.А. Перевезенцев, А.Г. Беляева, К.В. Лебедева-Георгиевская,
О.С. Кузнецова*

ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия,
e-mail: andrei_shtemberg@mail.ru

Резюме. Проблема нарушений функций мозга в результате комбинированных воздействий радиационных и нерадиационных факторов межпланетного полета, важнейшим из которых является микрогравитация – одна из важнейших в космической биологии и медицине, и в то же время наименее исследованных. Рассматривается взаимно модифицирующее влияние ряда важнейших радиационных и нерадиационных факторов межпланетного полета: длительного гамма-облучения, облучения ионами углерода, моделируемой гипогравитации и гипомангнитной среды при их комбинированном воздействии. Зарегистрированы как потенцирующие, синергические, так и антагонистические эффекты.

Ключевые слова: антиортостатическое вывешивание, ионы углерода, гипомангнитная среда, поведение животных, обмен моноаминов.

**COMBINED EFFECTS OF RADIATION AND NON-RADIATION FACTORS
OF INTERPLANETARY FLIGHT: NEUROBIOLOGICAL MODELS,
MUTUALLY MODIFYING INFLUENCE**

*A.S. Shtemberg, A.A. Perevezentsev, A.G. Belyaeva, K.V. Lebedeva-Georgievskaya,
O.S. Kuznetsova*

Institute of Biomedical Problems RAS, Moscow, Russia,
e-mail: andrei_shtemberg@mail.ru

Summary. The problem of brain dysfunction as a result of the combined effects of radiation and non-radiation factors of interplanetary flight, the most important of which is microgravity - one of the most important in space biology and medicine, and at the same time the least studied. The mutual modifying effect of a number of the most important radiation and non-radiation factors of interplanetary flight is considered: long-term gamma irradiation, carbon ion irradiation, simulated hypogravity and hypomagnetic medium under their combined influence. Both potentiating, synergistic and antagonistic effects have been recorded.

Key words: antiortostatic suspension, carbon ions, hypomagnetic environment, animal behavior, monoamines metabolism.

В настоящее время получено достаточно экспериментальных данных, свидетельствующих о существенных нарушениях функций центральной нервной системы (ЦНС) на всех уровнях ее организации, вызываемых воздействием тяжелых ионов в дозах, сопоставимых с потенциально возможными в ходе Марсианской миссии.

Чрезвычайно важной, и, в то же время, наименее изученной проблемой являются нейробиологические эффекты комбинированного действия ионизирующих излучений и нерадиационных факторов космического полета (ФКП), в частности, важнейшего из них – микрогравитации. Еще одним практически не изученным фактором, с которым столкнутся космонавты в процессе межпланетного полета, является гипомангнитная среда (ГМС). Имеются лишь единичные работы, посвященные нейробиологическим эффектам гипомангнитной среды, но они указывают на возможность нарушений, которые могут оказаться существенными для работоспособности космонавтов: изменения циркадных ритмов, эмоциональная неустойчивость и повышение агрессивности [1, 2]. Сведения о

нейробиологических эффектах ГМС в сочетании с другими факторами космического полета, в частности, радиационным, отсутствуют полностью.

Анализируя нейробиологические эффекты взаимодействия моделируемой микрогравитации – антиортостатического вывешивания (АнОВ) и ионизирующих излучений, мы обнаружили сложный их характер: на всех уровнях организации ЦНС (от молекулярного до интегративного) наблюдались как синергические, так и антагонистические отношения при комбинированном воздействии этих факторов.

Можно сделать вывод о том, что нейробиологические эффекты взаимодействия АнОВ и ионизирующих излучений при их синхронном комбинированном действии носят сложный характер, который мы назвали интерференционным, по аналогии с физическим явлением интерференции, проявляя синергический либо антагонистический эффекты, либо же появление новых эффектов в отношении поведения, метаболизма моноаминов и молекулярных механизмов. Не исключено, что проявление такого рода взаимодействия может приводить к нивелированию негативных последствий от воздействия этих факторов.

Целью данной работы было исследование нейробиологических эффектов комбинированного действия четырех важнейших факторов межпланетного полета, моделируемых в наземном эксперименте: пребывания в гипомагнитной среде, синхронного воздействия длительного гамма-облучения и моделируемой невесомости (АнОВ) и облучения головы ионами углерода ^{12}C .

Исследования были проведены на самцах крыс линии Long Evans.

Животные были подвергнуты четырем видам воздействия, моделирующего факторы космического полета:

- длительное (18 дней) пребывание в сильно скомпенсированном (ослабленном в 30-50 крат) магнитном поле;

антиортостатическое вывешивание продолжительностью 1 неделя в освещенном помещении со свободным доступом к корму и воде;

синхронное с вывешиванием гамма-облучение всего тела продолжительностью 1 неделя, общая ЭД 1 Гр; доступ к корму и воде свободный;

облучение головы ионами ^{12}C ; облучение на базе ИФВЭ РАН, г. Протвино. Заказанная доза – 0.8 Гр, ионы углерода с энергией 455 МэВ/нуклон, воздействие на голову.

Далее было проведено исследование поведения животных с помощью бвтврей поведенческих тестов: «открытое поле», приподнятый крестообразный лабиринт, водный тест Морриса, выработка условных рефлексов активного избегания в Y-образном лабиринте (дискриминантное обучение), а также исследование обмена моноаминов в ключевых структурах мозга.

Ранее в наших экспериментах было показано, что нейробиологические эффекты взаимодействия АнОВ и ионизирующих излучений носят сложный их характер: на всех уровнях организации ЦНС: наблюдались как синергические, так и антагонистические отношения при комбинированном воздействии этих факторов [3, 4]. Синергические эффекты проявились в основном на интегративном уровне, в частности, нарушение долговременной памяти и тревожности в приподнятом крестообразном лабиринте. Наибольший интерес представляют случаи антагонистического взаимодействия изучаемых факторов, когда комбинированное их действие приводило к более благоприятному результату, нежели изолированное действие каждого из них. Следует отметить, что, в отличие от синергических, антагонистические эффекты проявились на всех уровнях организации ЦНС.

На интегративном уровне антагонистические эффекты проявились в том, что в ряде случаев изолированное действие АнОВ вызывало более выраженное угнетение двигательной и ориентировочно-исследовательской активности и повышение показателей пассивно-оборонительного поведения и страха, нежели комбинированное воздействие

АнОВ+облучение в тесте «открытого поля». В моноаминергических системах эти эффекты проявились в более выраженном снижении концентрации адреналина в прилежащем ядре при облучении, а также в более резком снижении в префронтальной коре содержания метаболитов дофамина – диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК) при вывешивании и триметокситиронина (ЗМТ) при облучении, чем при комбинированном воздействии..

Но наиболее ярко антагонистические эффекты взаимодействия этих факторов проявились на молекулярном уровне. Так, произошло резкое повышение содержания mRNA в D₁ (в гипоталамусе) и D₂ (в стриатуме) рецепторах дофамина, а также еще более резкое его повышение в серотониновых транспортерах в обеих этих структурах при комбинированном воздействии. Аналогичная картина наблюдалась в этих же структурах с резким повышением экспрессии СОМТ–энзима, метилирующего дофаминергические структуры.

В данном эксперименте было установлено, что пребывание в гипомагнитных условиях усугубляет эффекты воздействия трех других факторов, показанные в наших предыдущих работах, в сторону усиления возбуждения, а также приводит к повышенному метаболизму моноаминов в некоторых структурах мозга, т.е. обладает потенцирующим эффектом.

1. Del Seppia C. et al. Exposure to a hypogeomagnetic field or to oscillating magnetic fields similarly reduce stress-induced analgesia in C57 male mice // *Life Sciences*. – 2000. – Т. 66. – №. 14. – С. 1299-1306.
2. Zhang X. et al. Effects of hypomagnetic field on noradrenergic activities in the brainstem of golden hamster // *Bioelectromagnetics: Journal of the Bioelectromagnetics Society, The Society for Physical Regulation in Biology and Medicine, The European Bioelectromagnetics*
3. Штемберг А.С., Лебедева-Георгиевская К.Б., Матвеева М.И., Кудрин В.С., Наркевич В.Б., Клодт П.М., Базян А.С. Влияние факторов космического полета, моделируемых в наземных условиях, на поведение, дискриминантное обучение и обмен моноаминов в различных структурах мозга крыс.// *Известия РАН. Серия биологическая*. 2014. № 2. С. 168-175.
4. Kokhan V.S., Lebedeva-Georgievskaya K.B., Kudrin V.S., Bazyan A.S., Maltsev A.V., Shtemberg A.S. An investigation of the single and combined effects of hypogravity and ionizing radiation on brain monoamine metabolism and rats' behavior. // *Life Sciences in Space Research*. 2019. V. 20. № 1. P. 12-19.

ДОКЛАДЫ

***NIGELLA SATIVA* – МОДУЛЯТОР РАДИОИНДУЦИРОВАННЫХ ЭФФЕКТОВ**

С.А. Абдуллаев¹, Д.В. Фомина¹, Н.Ф. Раева¹, Г.Д. Засухина^{1,2}

¹Государственный научный центр – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия

²Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия
e-mail: saabdullaev@gmail.com

Резюме. Исследовали влияние тимохинона, компонента черного тмина (*Nigella sativa*), на экспрессию ряда ядерных и митохондриальных генов в тканях селезенки и головного мозга при рентгеновском облучении в дозе 6 Гр мышей-самцов линии C57Bl/6. Показано, что изменения экспрессии генов через 6 и 24 ч после облучения нормализовались, если за 30 мин до облучения мышам вводили тимохинон в дозе 10 мг/кг, что свидетельствует о его радиопротекторных свойствах.

Ключевые слова: радиация, экспрессия генов, ядерная ДНК, митохондриальная ДНК, тимохинон.

***NIGELLA SATIVA* – MODULATOR OF RADIO-INDUCED EFFECTS**

S.A. Abdullaev¹, D.V. Fomina¹, N.F. Raeva¹, G.D. Zasukhina^{1,2}

¹State Scientific Center – Federal Medical Biophysical Center named after A.I. Burnazyan FMBA of Russia, Moscow, Russia

²Institute of General Genetics named after N.I. Vavilov RAS, Moscow, Russia
e-mail: saabdullaev@gmail.com

Summary. We studied the effect of thymoquinone, a component of black cumin (*Nigella sativa*), on the expression of a number of nuclear and mitochondrial genes in the tissues of the spleen and brain under X-ray irradiation at a dose of 6 Gy in male C57Bl/6 mice. It was shown that changes in gene expression 6 and 24 hours after irradiation were normalized if thymoquinone was administered to mice at a dose of 10 mg/kg 30 min before irradiation, which indicates its radioprotective properties.

Key words: radiation, gene expression, nuclear DNA, mitochondrial DNA, thymoquinone.

Модуляция радиоиндуцированных эффектов приводит либо к повышению устойчивости клеток и организма к воздействию физической или химической природы, либо сопровождается изменением их чувствительности. Ответ на радиацию зависит от особенностей генотипа, а также от условий реализации генов в окружающей клетку среде. Повышение устойчивости к радиации достигается либо протекторами, которые часто являются одновременно и антимутагенами и антиканцерогенами, или при адаптивном ответе, когда при предобработке клетки малыми дозами радиации или химическими мутагенами (например, тяжелыми металлами) через 4-5 часов формируется устойчивость клеток к действию повреждающих доз радиации или концентраций мутагена (неспецифический эффект). При этом было показано, что в репаративно-дефектных клетках (например, в клетках пациентов с синдромом Дауна), в которых адаптивный эффект не формируется, антимутагены (витамины и экстракты некоторых растений) способны снижать мутагенный потенциал радиации или химических канцерогенов, что свидетельствует о различиях в путях защиты клетки при адаптивном ответе и действии антимутагенов [1]. В последние годы в качестве радиопротекторов стали исследоваться растения и их компоненты, к которым можно отнести черный тмин (*Nigella sativa*) и его компонент – тимохинон (ТХ). ТХ широко исследуется как антигипертензивное, антидиарейное, анальгетическое соединение, обладающее также нефропротекторными, кардиопротективными, гастропротективными, нейропротективными свойствами [2]. Одним из важнейших качеств ТХ является его антиопухолевая активность, при этом

препарат не только действует на опухолевую ткань, но и сохраняет неповрежденными от радиации окружающие опухоль клетки. Оценку активности ТХ при действии радиации определяют по способности снижать оксидативный стресс, активируя энзиматические и неэнзиматические системы защиты [3]. Нами ответ на радиоиндуцированный стресс оценывался по уровням экспрессии ядерных и митохондриальных генов ДНК у мышей, которым вводили ТХ (10 мг/кг) и через 30 минут облучали (6 Гр). Через 6 и 24 часа исследовали активность ядерных и митохондриальных генов в селезенке и головном мозге. После воздействия радиации экспрессия исследованных генов ядерной ДНК повышалась, но оставалась на уровне контроля, если за 30 мин до облучения мышам вводили ТХ. Такая же закономерность была отмечена и с генами митохондриальной ДНК, которые в комбинации ТХ и радиация модифицировались, приближаясь к контрольным показателям. Оксидативные повреждения генов и других компонентов клетки являются основными, приводящими клетку к мутационным преобразованиям или к гибели. ТХ, как следует из многочисленных исследований, обладает протекторным эффектом и защищает многие ткани и органы против оксидативного стресса [4]. Авторы полагают, что механизм действия ТХ против опухолевых клеток проявляется как результат ингибиторного эффекта связи различных регионов гена *MDM2*, который является транскрипционной мишенью *TP53* (гена-супрессора опухоли), который модифицируется в злокачественных клетках, и оба гена характеризуются сверхэкспрессией. Ранее нами было показано модифицирующее действие малых доз радиации по отношению к повреждающему действию высоких доз радиации [5, 6]. При этом было показано, что при предобработке клеток малыми дозами радиации активность генов-супрессоров опухолей повышается, а генов-онкогенов снижается также, как и генов-регуляторов (микро-РНК и длинных некодирующих РНК). Этот подход показывает существование разных путей повышения устойчивости клеток и их модификация разными методами. Учитывая определенные сложности для повышения устойчивости клеток при использовании малых доз радиации, применение природных протекторов-антимутагенов представляется перспективным.

Следовательно, многовекторность действия ТХ на нормальные и опухолевые клетки при отсутствии токсичности, его выраженная антиоксидантная активность позволяют считать этот препарат возможным для предотвращения, в том числе и радиоиндуцированных изменений генов как ядерной, так и митохондриальной ДНК. Модификация генов может служить маркером радиоиндуцированных эффектов и показателем влияния препаратов на уровень свободных радикалов в клетке.

1. Засухина Г.Д., Васильева И.М., Шагирова Ж.М. и др. Сравнение эффектов антимутагенов и адаптирующих факторов в радиоустойчивых и радиочувствительных клетках в связи с белковым и генным полиморфизмом. // Технологии живых систем. – 2009. – Т.6, № 1. – С. 3-13.
2. Gaurav T., Gupta M., Devhare L. et al. Therapeutical and Phytochemical properties of Thymoquinone derived from *Nigella sativa*. // Current drug research reviews. 2023.
3. Dogru S., Taysi S., Yugel A. Effects of thymoquinone in the lungs of rats against radiation-induced oxidative stress. // Europ. Rev. for Medical and Pharmacol. Sci. – 2024. – V. 28. – P. 191-198.
4. Taysi S., Algburi F. Sh., Mohammed Z. R. et al., Thymoquinone – a review on pharmacological importance and its association with oxidative stress, COVID-19 and radiotherapy, // Mini-Rev. in Medicinal Chemistry. – 2022. – V. 22. – P. 1847-1875.
5. Михайлов В.Ф., Засухина Г.Д. Новый подход к стимуляции защитных систем организма малыми дозами радиации. // Успехи современной биологии. – 2020. – Т. 140 – № 3. – С. 244-252.
6. Михайлов В.Ф., Салеева Д.В., Рождественский Л.М. и др. Активность генов и некодирующих РНК как подход к определению ранних биомаркеров радиоиндуцированного опухолеобразования у мышей. // Генетика. – 2021. – Т. 57, №10. – С. 1131-1140.

ИМПУЛЬСНОЕ МАГНИТНОЕ ПОЛЕ МОДИФИЦИРУЕТ ГЕНОТОКСИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ГАММА-ИЗЛУЧЕНИЯ В КЛЕТКАХ МЕРИСТЕМЫ КОРНЯ ЛУКА

А.Е. Алдибекова, Е.А. Пряхин

Уральский научно-практический центр радиационной медицины ФМБА России,
Челябинск, Россия
e-mail: albinaaes@gmail.com

Резюме. Изучали генотоксические эффекты комбинированного действия импульсного магнитного поля (ИМП) с частотой 28,6 кГц и индукцией магнитного поля в импульсе 16 мТл в течение 60 сек. до и после гамма-облучения в дозе 3 Гр в клетках меристемы проростков семян лука. ИМП приводит к двукратному повышению частоты клеток меристемы лука с хромосомными aberrациями. ИМП в комбинации с гамма-облучением приводит к снижению эффективности генотоксического действия ионизирующего гамма-излучения.

Ключевые слова: импульсное магнитное поле, ионизирующее излучение, лук, хромосомные aberrации, комбинированное действие, антагонистический эффект

PULSED MAGNETIC FIELD MODIFIES THE GENOTOXIC EFFECTS OF GAMMA RADIATION IN THE CELLS OF THE ONION ROOT MERISTEM

A.E. Aldibekova, E.A. Pryakhin

Urals research center for radiation medicine, Chelyabinsk, Russia
e-mail: albinaaes@gmail.com

Summary. The genotoxic effects of the combined effects of PMF with a frequency of 28.6 kHz with the induction of a magnetic field in a pulse of 16 mT for 60 seconds before and after gamma radiation at a dose of 3 Gy in the cells of the meristem of onion seed seedlings were studied. Exposure to a single PMF leads to a twofold increase in the frequency of onion meristem cells with chromosomal aberrations. PMF in combination with gamma irradiation leads to a decrease in the effectiveness of the genotoxic effect of ionizing gamma radiation.

Key words: pulsed magnetic field, ionizing radiation, onion, chromosomal aberrations, combined action, antagonistic effect

Импульсные магнитные поля (ИМП) применяются в научных исследованиях, материаловедении, медицине. Механизмы биологического действия ИМП остаются далекими от полного понимания. Одним из способов изучения биологического действия ИМП может быть изучение его комбинированного действия с факторами, для которых биологическое действие хорошо изучено, например, с гамма-излучением. При комбинированном действии двух факторов может происходить суммирование эффекта, антагонистическое или синергическое действие. Поэтому изучение биологических эффектов при комбинированном взаимодействии ИМП и гамма-излучения является актуальным для радиобиологии.

Целью настоящего исследования была оценка комбинированного действия ИМП и гамма-излучения на индукцию хромосомных aberrаций в клетках меристемы проростков семян лука (*Allium cepa* L.).

Оценивали комбинированное действие ИМП (частота следования импульсов в месте расположения биологического объекта 28,6 кГц; индукция магнитного поля в импульсе 16 мТл), длительность экспозиции ИМП - 60 сек. Гамма-облучение проросших семян осуществляли на установке ИГУР-1М с 4 источниками ¹³⁷Cs с мощностью дозы 0,7 Гр/мин. в рабочем пространстве. Были сформированы следующие группы:

- воздействие ИМП в течение 60 сек.;
- гамма-облучение в дозе 3 Гр;
- воздействие ИМП за 15 мин. до гамма-облучения;

- воздействие ИМП спустя 15 мин. после гамма-облучения;
- воздействие ИМП за 5 ч. до гамма-облучения;
- воздействие ИМП спустя 5 ч. после гамма-облучения;
- ложное облучение.

В группе ложного облучения частота клеток с хромосомными aberrациями составила $2,8 \pm 0,7$ %. При изучении влияния факторов по отдельности было выявлено, что ИМП приводило к статистически значимому повышению частоты клеток с хромосомными aberrациями до $6,6 \pm 1,1$ % ($\chi^2=10,82$; $p=0,001$). Гамма облучение в дозе 3 Гр приводило к статистически значимому увеличению хромосомных aberrаций до $33,1 \pm 2,1$ % ($\chi^2=172,69$; $p<0,001$).

При комбинации воздействия с интервалом 15 мин. в группе ИМП / 15 мин. / 3 Гр регистрировали статистически значимое снижение частоты клеток с aberrациями как по сравнению с острым гамма-облучением ($\chi^2=6,0$ $p=0,01$), так и при сравнении с ожидаемым эффектом ($\chi^2=4,1$, $p<0,001$). После воздействия ИМП при предварительном гамма-облучении в дозе 3,0 Гр также происходило достоверное снижение частоты клеток с хромосомными aberrациями по сравнению с острым гамма-облучением ($\chi^2=26,5$, $p<0,001$) и при сравнении с ожидаемым эффектом ($\chi^2=5,5$, $p<0,001$).

При воздействии факторов с интервалом времени 5 ч. при комбинации ИМП / 5 ч. / 3 Гр регистрировал снижение частоты aberrантных клеток в ана-телофазе до $16,7 \pm 1,1$ % при сравнении с гамма-контролем ($\chi^2=50,1$; $p<0,001$) и при сравнении с ожидаемым аддитивным эффектом ($\chi^2=2,7$, $p=0,008$). При гамма-облучении в дозе 3,0 Гр и спустя 5 ч. последующем воздействии на клетки меристемы ИМП, регистрировали снижение частоты клеток с aberrациями ($\chi^2=18,7$; $p<0,001$) от ожидаемого эффекта ($\chi^2=6,0$, $p<0,001$).

Полученные результаты показывают, что ИМП приводит к повышению частоты клеток с aberrациями в ана-телофазе. ИМП в комбинации с гамма-облучением приводит к снижению эффективности ионизирующего гамма-излучения, как при воздействии до ионизирующего излучения, так и при воздействии после гамма-облучения.

Для объяснения выявленных эффектов было сформулировано 4 гипотезы: 1) ИМП при воздействии за 15 мин. до ионизирующего воздействия действует как радиопротектор [1, 2]; 2) ИМП влияет на репарацию радиационно-индуцированных повреждений ДНК и повышает ее эффективность; 3) ИМП по аналогии с эффектами малых доз ионизирующего излучения является фактором, индуцирующим в клетках оксидативный стресс и изменения, характерные для радиационно-индуцированного адаптивного ответа; 4) ИМП является фактором, влияющим на судьбу клеток после взаимодействия с ионизирующим излучением, приводит к остановке клеток в сверочных точках, повышает вероятность апоптоза клеток с хромосомными aberrациями.

В случае генотоксического действия ИМП, похожего по механизмам действия на радиосенсибилизаторы, следовало ожидать аддитивного или синергического эффекта двух факторов. В наших экспериментах с использованием клеток растений исследуемая комбинация (воздействие ИМП за 15 мин. до гамма-облучения) ИМП вместо увеличения радиосенсибилизации привело к статистически значимому снижению частоты клеток меристемы лука с хромосомными aberrациями. Данный эффект может указывать на то, что ИМП запускает реакцию, направленную на повышение эффективности репарации ДНК, как это было показано для малых доз ионизирующего излучения.

В случае, если эффекты ИМП при комбинированном действии с гамма-облучением преимущественно связаны с повышением эффективности репарации, это могло бы сильнее проявиться при воздействии ИМП через 15 мин. после гамма-облучения, когда регистрируется максимальное повышение активности ферментов репарации [3]. В наших экспериментах было выявлено снижение частоты клеток с aberrациями в ана-телофазе, а также частоты клеток с микроядрами при комбинированном действии ИМП через 15 мин. после воздействия гамма-облучением. Эти результаты поддерживают гипотезу о том, что

ИМП влияет на репарацию радиационно-индуцированных повреждений ДНК и повышает ее эффективность.

Воздействие ИМП через 5 ч. после гамма-облучения никак не могло оказать влияние на репарацию ДНК. Результаты экспериментов в виде снижения частоты клеток с хромосомными aberrациями в ана-телофазе и клеток с микроядрами при воздействии ИМП через 5 ч. после гамма-облучения не позволяют исключить в качестве механизма действия повышение вероятности апоптозной гибели aberrантных клеток.

Эксперименты, в которых воздействие ИМП осуществляли за 5 ч. до гамма-облучения, можно было рассматривать как аналог воздействия малых доз ионизирующего излучения в модели радиационно-индуцированного адаптивного ответа.

Комплекс полученных результатов позволяет высказать предположение, что ИМП является фактором, индуцирующим в клетках элиминацию aberrантных клеток и изменения, характерные для радиационно-индуцированного адаптивного ответа.

1. Suman S., Datta K., Chakraborty K., Kulkarni S.S, Doiron K., Fornace A.J., Kumar K.S., Hauer-Jensen M., Ghosh S.P. Gamma tocotrienol, a potent radioprotector, preferentially upregulates expression of anti-apoptotic genes to promote intestinal cell survival // *Food and Chemical Toxicology*. – 2013. – V. 60. – P. 488-496.
2. Rosen E.M., Day R., Singh V.K. New approaches to radiation protection // *Front Oncol*. – 2015. – 4. – P. 381. doi: 10.3389/fonc.2014.00381.
3. Jazayeri A., Falck J., Lukas C., Bartek J., Smith G.C., Lukas J., Jackson S.P. ATM- and cell cycle-dependent regulation of ATR in response to DNA double-strand breaks // *Nature Cell Biology*. – 2006. – 8 (1). – P. 37–45.

УСИЛЕНИЕ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ДНК МЕТАЛЛОПОРФИРИНАМИ

L.R. Aloyan^{1,2}, A.A. Avetisyan¹

¹Ереванский государственный университет, Ереван, Армения

²Национальная научная лаборатория имени А.И. Алиханяна (Ереванский институт физики), Ереван, Армения
e-mail: aloyan@ysu.am

Резюме. Важной задачей является изучение механизмов воздействия радиации на ДНК, поскольку основной причиной «смерти» клеток считаются нарушения их структуры. Сочетание лучевой терапии с другими методами лечения рака также будет способствовать решению наших проблем, то есть повышению эффективности лечения за счет уменьшения побочных эффектов лучевой терапии. Целью данного абстракта является изучение влияния потенциально фототерапевтических соединений - металлопоринов, используемых в фотодинамической терапии при облучении электронным лучом, на повреждение ДНК. Однако повреждение ДНК может произойти как в опухолевых, так и в близко расположенных здоровых клетках, что может привести ко многим заболеваниям человека. Сочетание лучевой терапии с другими методами лечения рака (химиотерапией, фототерапией) существенно изменило лечение опухолей. В данной работе выявлены структурные изменения, происходящие в молекуле ДНК при облучении электронным пучком в различных дозах (2Гр, 4Гр). Для изучения влияния присутствия порфирина ZnТOEPyP4 на радиационно-индуцированные повреждения ДНК были исследованы различные относительные концентрации комплексов ($\tau = 0,01; 0,02, 0,04$, где $\tau = C_{\text{porf.}}/C_{\text{DNA}}$). Исследования проводились методом спектроскопического плавления в буферном растворе 10^{-3} М NaCl, pH 7,2.

На основании полученных данных мы предполагаем, что присутствие Zn порфиринов усиливает радиационное воздействие на структуру ДНК. Показано, что разрывы водородных связей молекулы ДНК или двойные разрывы цепи ДНК происходят в зависимости от дозы облучения электронным пучком.

Ключевые слова: ДНК, порфирины, электронный пучок, синергетические эффекты

ENHANCEMENT OF RADIATION-INDUCED DNA DAMAGE BY METALLOPORPHYRINS

L.R. Aloyan^{1,2}, A.A. Avetisyan¹

¹Yerevan State University, Yerevan, Armenia

²A.I. Alikhanyan National Science Laboratory (Yerevan Physics Institute) foundation,
Yerevan, Armenia
e-mail: aloyan@ysu.am

Summary. The important task is to study the mechanisms of the influence of radiation on the DNA, since the primary cause of the "death" of cells is considered to be their structure breaks. The combination of radiation therapy with other cancer treatments will also contribute to the solution of our problems, i.e. to improve the effectiveness of the treatment by reducing the side effects of radiation therapy. This abstract aims to explore the effect of potentially phototherapeutic compounds - metalloporphyrins used in photodynamic therapy during electron beam irradiation on DNA damage. However, DNA damage can occur both in tumor and in closely spaced healthy cells, which can lead to many human diseases. The combination of radiation therapy with other cancer treatments (chemotherapy, phototherapy) has significantly changed the treatment of tumors. In this work to identify the structural changes that occur in the DNA molecule when irradiated with an electron beam at different doses (2Gy, 4Gy). To study

the influence of the presence of ZnTOEPyP4 porphyrin on radiation induced DNA damages with different relative concentrations of complexes were investigated ($r = 0.01; 0.02, 0.04$, where $r = C_{\text{porf.}}/C_{\text{DNA}}$). Then an attempt was made to reveal the possible potentiating effects of porphyrins on DNA damage depending on the concentration of porphyrin and the radiation dose. The studies were carried out by the spectroscopy melting method in 10^{-3} M NaCl buffer solution, pH 7.2.

From obtained data, we assume that the presence of Zn porphyrin enhances the radiation effect on the DNA structure. Showed that the breaks of hydrogen bonds of the DNA molecule or double breaks of the DNA chain occur depend of irradiation dose of electron beam.

Key words: DNA, porphyrins, electron beam, Synergistic Effects

**ПОСТУПЛЕНИЕ РАДИОНУКЛИДОВ В АТМОСФЕРУ МОЖЕТ БЫТЬ СВЯЗАНО
С ДЕСТРУКЦИЕЙ ФИТОПЛАНКТОНА В ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ
В УСЛОВИЯХ РАДИОАКТИВНОГО И ХИМИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ**

С.С. Андреев, Н.И. Атаманюк, А.А. Перетыкин, Е.А. Прыхин

Уральский научно-практический центр радиационной медицины ФМБА России,
Челябинск, Россия
e-mail: andreevsss@mail.ru

Резюме. Радиоактивное, химическое и органическое загрязнение водоемов ПО «Маяк» приводит к увеличению биомассы фитопланктона. Бурное развитие фитопланктона в радиоактивно загрязненных водоемах связано с пузырьковой эмиссией газов из донных отложений и, соответственно, с радиоактивным загрязнением атмосферы вокруг радиоактивно загрязненных водоемов за счет формирования водного аэрозоля в результате схлопывания пузырьков на поверхности воды.

Ключевые слова: пресноводные экосистемы, фитопланктон, радиоактивное загрязнение, химическое загрязнение, пузырьковая эмиссия газов, загрязнение атмосферы.

**THE RELEASE OF RADIONUCLIDES INTO THE ATMOSPHERE MAY BE
ASSOCIATED WITH THE DESTRUCTION OF PHYTOPLANKTON IN AQUATIC
ECOSYSTEMS UNDER CONDITIONS OF RADIOACTIVE AND CHEMICAL
CONTAMINATION**

S.S. Andreev, N.I. Atamanyuk, A.A. Peretykin, E.A. Pryakhin

Urals Research Center for Radiation Medicine, Chelyabinsk, Russia
e-mail: andreevsss@mail.ru

Summary. Radioactive, chemical and organic pollution of PA "Mayak" reservoirs leads to an increase in phytoplankton biomass. The rapid development of phytoplankton in radioactively contaminated reservoirs is associated with gases ebullition from bottom sediments and, accordingly, with radioactive contamination of the atmosphere around radioactively contaminated reservoirs due to the formation of an aqueous aerosol as a result of the collapse of bubbles on the water surface.

Key words: freshwater ecosystems, phytoplankton, radioactive pollution, chemical pollution, gases ebullition, atmospheric pollution.

Антропогенное, радиоактивное загрязнение экосистем в результате их сложности и множества внутренних связей сопровождается целым комплексом сложных взаимодействий радиационных и нерадиационных факторов, которые реализуются в прямых и не прямых эффектах ионизирующего излучения. Одним из примеров таких сложных связей является связь радиоактивного загрязнения водных экосистем и опосредуемое биологическими процессами вторичное загрязнение атмосферы вблизи таких водоемов.

Водоемы-хранилища токсичных химических и радиоактивных отходов могут являться источником загрязнения атмосферы и прибрежных территорий в результате уноса водного аэрозоля с их акватории. Так, например, вблизи предприятия ПО «Маяк» вплоть до 2015 года (до момента полного закрытия его водной акватории) основным источником загрязнения атмосферы являлся процесс образования и переноса водного аэрозоля с акватории водоема оз. Карачай [1]. Основным механизмом образования водного аэрозоля является схлопывание пузырьков газа на водной поверхности.

Цель работы – определение причинно-следственных связей между радиоактивным и химическим загрязнением водных экосистем, биологическими процессами продукции и деструкции в водоемах и радиоактивным загрязнением атмосферы.

Существуют разные механизмы образования водного аэрозоля, часть из них связаны с физическими факторами (ветер, дождь), также происходит образование аэрозоля при схлопывании пузырьков газов, поднимающихся к поверхности воды из донных отложений. При исследовании ветрового уноса радионуклидов с водным аэрозолем водоема В-9 (озеро Карачай) было отмечено, что атмосферные осадки не оказывали существенного влияния на скорость генерации и ветровой перенос водного аэрозоля, максимальное радиоактивное загрязнение атмосферы вблизи озера Карачай наблюдалось в летние месяцы (май-август) и снижалось при понижении температуры воды осенью, несмотря на наличие других факторов образования аэрозоля (дожди, ветер и др.) [1]. Было высказано предположение, что основной фактор, влияющий на образование водного аэрозоля над радиоактивно загрязненными водоемами ПО «Маяк» – это схлопывание пузырьков газов, образующихся в водоеме в результате биологических процессов.

В донных отложениях водоемов в результате деятельности бактерий-редуцентов происходит трансформация органического вещества до неорганических веществ, в том числе газов. Эти газы скапливаются в донных отложениях и затем поднимаются в виде пузырьков к поверхности воды. Если чистая продукция газа выше, чем его диффузионный перенос из донных отложений в воду, то образуются и высвобождаются из ила пузырьки газа, состоящие в основном из метана, азота и углекислого газа.

В настоящей работе объектом исследования являлись экосистемы специальных промышленных водоемов ПО «Маяк» В-11, В-10, В-4, В-3, В-17 и В-17, описание которых, в том числе содержание радионуклидов в воде и донных отложениях, приведено в работе [2]. Анализировали показатели биомассы фитопланктона, полученные в результате наблюдений за фитопланктоном водоемов в 2008 – 2015 гг. [3]. Данные о загрязнении атмосферы вблизи ПО «Маяк» взяты из работ [1, 2]. Анализ пузырьковой эмиссии газов проводили на водоемах В-9 и В-4 в 2015 и 2016 гг., анализ состава газов в пробах, отобранных с помощью газовых ловушек на водоемах В-9 и В-4 проводили с помощью газового хроматографа «Хроматэк-Кристалл 5000.2» [1].

В нашей работе пузырьки газов, собранные в водоеме В-4, в среднем на 60 ± 11 % состояли из метана, на 35 ± 12 % из азота, на $2,4 \pm 0,5$ % из кислорода, на $1,5 \pm 1,0$ % из углекислого газа, на $0,47 \pm 0,14$ % из аргона, на $0,00089 \pm 0,00011$ % из водорода. Состав газов, определенный в пузырьках, поднимающихся на поверхность воды водоема В-4, совпадает с составом газов в пузырьках, собранных в «чистых» природных эвтрофных водоемах, что подтверждает гипотезу биогенного происхождения пузырьков, связанного с разложением детрита в донных отложениях водоема.

По нашим оценкам, эмиссия свободного, нерастворенного газа, который способен формировать пузырьки в июле-августе составляла $88 - 290$ мл /м²*сутки в водоеме В-9 в 2015 г. и $270 - 460$ мл/м²*сутки в водоеме В-4 в 2016 г. Полученные результаты не противоречат оценкам объема выделяющихся с пузырьками газов для разных природных водоемов.

Уровни выбросов метана коррелируют с продуктивностью водохранилищ по всему миру, темпы метаногенеза в пресноводных отложениях увеличиваются с увеличением биомассы фитопланктона в целом и цианобактерий в составе фитопланктона в частности [4]. Установлена причинно-следственная связь между эмиссией метана и биомассой цианобактерий, а также рассчитана количественная зависимость между этими показателями [4].

В водоемах-хранилищах жидких радиоактивных отходов ПО «Маяк» в летний период наблюдается цветение воды – массовое развитие фитопланктона. В наших исследованиях выявлено повышение биомассы фитопланктона с увеличением уровня радиационного воздействия [3]. Так, в Шершневском водохранилище (водоем сравнения с фоновым уровнем радиоактивного загрязнения) средняя многолетняя биомасса фитопланктона за летний период составила 4 г/м³, далее в порядке повышения уровня

радиоактивного загрязнения и, соответственно, уровня радиационного воздействия этот показатель составил: в водоеме В-11 – 10 г/м³; в водоеме В-10 – 20 г/м³; в водоеме В-3 – 41 г/м³; в водоеме В-4 – 20 г/м³; в водоеме В-17 – 14 г/м³; в водоеме В-9 – 16 г/м³. Существенным является органическое загрязнение водоемов В-10 (БПК₅ – 2,2 мг О₂/л, биохроматная окисляемость – 66,3 мгО/л) и В-4 (БПК₅ – 2,2 мг О₂/л, биохроматная окисляемость – 66,3 мгО/л), а также высокий уровень нитратов в водоемах В-17 (2,5 г/л) и В-9 (4,4 г/л). Органическое загрязнение является известным фактором, приводящим к массовому развитию фитопланктона, а для нитратов было показано, что сочетанное действие высокого содержания нитратов с ионизирующим излучением характеризуется антагонистическим взаимодействием [5].

В наших исследованиях была выявлена положительная статистически значимая корреляционная связь между биомассой фитопланктона и объемом газа, поднимающегося с пузырьками. Наши наблюдения позволяют полагать, что эвтрофикация и бурное развитие фитопланктона в радиоактивно загрязненных водоемах связаны с пузырьковой эмиссией газов из донных отложений и, соответственно, с радиоактивным загрязнением атмосферы вокруг радиоактивно загрязненных водоемов за счет формирования водного аэрозоля в результате схлопывания пузырьков на поверхности воды. Таким образом, для сокращения аэрозольного выноса радионуклидов из радиоактивно загрязненных водных объектов необходимо контролировать развитие фитопланктона и поступление биогенных элементов, вызывающих эвтрофикацию таких водоемов.

1. Pryakhin E.A., Mokrov Yu.G., Trapeznikov A.V., et al. Gas ebullition associated with biological processes in radioactively contaminated reservoirs could lead to airborne radioactive contamination // *Nuclear Engineering and Technology*. 2023. Volume 55, Issue 11, November 2023, Pages 4204–4212 <https://doi.org/10.1016/j.net.2023.07.042>.
2. Pryakhin EA, Mokrov YG, Tryapitsina GA, et al. Characterization of biocenoses in the storage reservoirs of liquid radioactive wastes of Mayak PA. Initial descriptive report // *J Environ Radioact*. 2016. V. 151, Part 2. P 449–460. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2016.03.021
3. Атаманюк Н.И., Гераськин С.А., Пряхин Е.А. Эффекты хронического радиационного воздействия разного уровня на фитопланктон специальных промышленных водоемов предприятия ядерно-энергетического комплекса ПО «Маяк» // *Вопросы современной альгологии*. 2021. № 1(25). С. 25–34.
4. Bartosiewicz M, Maranger R, Przytulska A, Laurion I. Effects of phytoplankton blooms on fluxes and emissions of greenhouse gases in a eutrophic lake. *Water Res*. 2021 May 15;196:116985. doi: 10.1016/j.watres.2021.116985.
5. Тряпицына Г.А., С.П. Тарасова, Н.И. Духовная, Д.И. Осипов, Е.А. Пряхин Экспериментальная оценка сочетанного действия нитратов и острого γ -облучения на рост зеленых водорослей *Scenedesmus quadricauda* // *Радиационная биология. Радиоэкология*, 2012, Т. 52, № 3, С. 298–304.

**ВОСПРОИЗВЕДЕНИЕ МОДЕЛИ РАДИАЦИОННОГО ДЕРМАТИТА,
ИНДУЦИРОВАННОГО ПРОТОННЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ,
НА МЫШАХ ЛИНИИ SHK, C57BL/6 И BALB/C**

В. А. Аникина¹, С. С. Сорокина¹, А. Е. Шемяков^{1,2}, Н. Р. Попова¹

¹ Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

² Филиал «Физико-технический центр» Физического института имени П.Н. Лебедева РАН, Протвино, Россия

e-mail: viktoriya.anikina@list.ru

Резюме. Сравнительная оценка межлинейных различий мышей SHK, C57BL/6 и Balb/c после воздействия протонного излучения в дозе 30 Гр показала, что мыши Balb/c являются наиболее радиочувствительными. Однако при моделировании радиационного дерматита следует принимать во внимание не только уровень радиочувствительности выбранной линии, но и их фенотипические характеристики, в том числе уровень стрессоустойчивости, окрас шерсти и кожных покровов.

Ключевые слова: радиационно-индуцированный дерматит, кожная токсичность, модели in vivo, протонная терапия, мыши

**THE MODEL REPRODUCTION OF RADIATION DERMATITIS INDUCED BY
PROTON RADIATION ON SHK, C57BL/6 and BALB/C MICE**

V. A. Anikina¹, S. S. Sorokina¹, A. E. Shemyakov^{1,2}, N. R. Popova¹

¹ Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia

² Branch “Physical-Technical Center” of P.N. Lebedev Physical Institute of the Russian Academy of Sciences, Protvino, Russia

e-mail: viktoriya.anikina@list.ru

Summary. A comparative study of SHK, C57BL/6 and Balb/c mice after exposure to proton radiation at dose of 30 Gy showed that Balb/c mice are the most radiosensitive. However, not only the level of radiosensitivity of the selected line of mice but also their phenotypic characteristics, including stress tolerance level, coat and skin colour should be taken into account when modeling radiation dermatitis.

Key words: radiation-induced dermatitis, skin toxicity, in vivo models, proton therapy, mice

Радиационный дерматит (РД) является одним из наиболее частых побочных эффектов стандартной лучевой терапии, при этом для протонной лучевой терапии накопленных данных недостаточно. До сих пор отсутствуют как специфические средства лечения данной патологии, так и валидированные экспериментальные модели на животных с применением различных источников ионизирующего излучения и сравнительной характеристикой выбранных тест-объектов. В большинстве случаев для разработки модели радиационно-индуцированного повреждения кожи используют рентгеновское или гамма-излучение, и лишь в последние 2-3 года стали появляться единичные работы по индукции РД протонами.

При планировании модельных экспериментов на мышах двумя наиболее часто используемыми линиями являются инбредные C57BL/6 и BALB/c, реже используются аутбредные линии. Несмотря на широкое применение инбредных линий мышей они подвергаются критике за отсутствие генетического разнообразия. Таким образом, при разработке экспериментальной модели актуальным является обоснование выбора биологического объекта.

Целью данной работы стало исследование различий нелинейных аутбредных и линейных инбредных мышей в модели РД, индуцированного однократным локальным воздействием протонного излучения в дозе 30 Гр.

В исследовании использовали 7-9 недельных самцов нелинейных аутбредных мышей SHK (n=20), полученных из вивария ИТЭБ РАН, и линейных инбредных мышей C57BL/6 и Balb/c (n=15), полученных из питомника животных «Филиал Столбовая ФГБУН Нцбмт ФМБА России». Облучение экспериментальных животных проводили однократно с дорсальной стороны тела сканирующим пучком протонов в расширенном пике Брэгга в комплексе протонной терапии «Прометеус» ФТЦ ФИАН в дозе 30 Гр с энергией протонов 87,8 МэВ и площадью облучения 10 x 10 мм. Во время сеанса облучения животных подвергали внутрибрюшинной наркотизации с использованием комбинации препаратов «Золетил 100» и «Ксила». После облучения осмотр животных проводили ежедневно в течение 21-х сут с целью фиксации динамики и проявления РД. Для оценки степени повреждения кожи использовали международную классификацию RTOG, согласно которой реакции различной интенсивности оцениваются в диапазоне от 1 до 4 степени. Фотофиксацию животных проводили с дорсальной стороны 1 раз в 7 сут. Оценку динамики массы тела мышей проводили за 1 сут до облучения, далее – еженедельно в течение 70 сут. Забор крови проводили из хвостовой вены путем отрезания кончика хвоста в следующие сроки: за 1 сут до облучения, через 1 и 3 сут после облучения, и далее – еженедельно.

Было показано, что латентный период для всех исследуемых линий мышей составил 11 сут. Однако к 21 сут были отмечены различия в динамике и частоте проявления РД, так у 60-70 % мышей SHK и C57BL/6 наблюдали 2 степень повреждения, тогда как у 75 % мышей линии Balb/c отмечали наиболее тяжёлую 4 степень. К 70 сут различия между линиями сохранились. Полное заживление радиационно-индуцированного повреждения кожи и восстановление волосяного покрова было отмечено только у мышей SHK и C57BL/6, тогда как у мышей линии Balb/c к 70 сут повреждения кожи соответствовали 2-4 степени. Исследование динамики массы тела показало отсутствие достоверных различий массы тела облученных и интактных животных во всех исследуемых линиях мышей. Оценка изменения количества форменных элементов крови выявила значимое снижение лейкоцитов, лимфоцитов и тромбоцитов к 70 сут после воздействия протонного излучения только у мышей Balb/c. Выживаемость животных на окончание эксперимента (70 сут) составила 100 % во всех экспериментальных группах.

Сравнительная оценка межлинейных различий мышей SHK, C57BL/6 и Balb/c после воздействия однократного локального протонного излучения в дозе 30 Гр по степени и динамике формирования РД, изменению массы тела и количеству форменных элементов крови показала, что мыши Balb/c являются наиболее радиочувствительными. Полученные данные согласуются с данными о высокой чувствительности Balb/c к ряду физических факторов, главным образом к действию ионизирующего излучения, что связывают, в частности, с высокой чувствительностью системы гематопоза и клеток костного мозга, дефицитом тирозиназы и пероксидазы в коже, а также генетической предрасположенностью к повышенной радиационно-индуцированной геномной нестабильности за счёт снижения активности ДНК-РКcs. При использовании мышей линии Balb/c в качестве модельного объекта для изучения протон-индуцированного дерматита следует существенно уменьшить поглощенную дозу. Заметим, что для дальнейшего практического применения модели нужна высокая воспроизводимость РД – однородность в стадийности и степени выраженности (2 степень) в экспериментальной группе с достаточно длительным латентным периодом, когда возможно терапевтическое вмешательство до разгара болезненной деструктивной симптоматики. Кроме того, в исследованиях с локальным воздействием излучения при моделировании РД, выбирая тест-объект среди лабораторных мышей, следует принимать во внимание не только

уровень радиационно-индуцированных изменений (радиочувствительности) выбранной линии, но и их фенотипические характеристики, в том числе поведенческие особенности, уровень стрессоустойчивости, а также окрас шерсти и кожных покровов. При обязательной визуальной оценке степени повреждения кожи те мыши, которые имеют светлый окрас шерсти и кожных покровов, становятся более предпочтительными (SHK, Balb/c). При этом линия C57BL/6 имеет чёрный окрас покровов, что затрудняет визуализацию повреждений, но обладает рядом преимуществ, в частности пониженным уровнем тревожности и меньшей радиочувствительностью, что может также вносить вклад в полученные результаты.

Таким образом, на текущем этапе валидации модели протон-индуцированного дерматита, оптимальным объектом являются аутбредные нелинейные SHK мыши с учётом их высокой гетерогенности и достаточно высокой радиоустойчивости. При этом следующим шагом должна стать адаптация данной модели для мышей линии Balb/c, учитывая не только увеличение стоимости эксперимента, но и фенотипические особенности линии и планируемые методы детекции воздействия на организм.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 22-63-00082.

ВЛИЯНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ПРЕПАРАТА МЕЛЬДОНИЯ И ЭТИЛМЕТИЛГИДРОКСИПИРИДИНА СУКЦИНАТА НА РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОВЕДЕНИЯ У МЫШЕЙ

Н.И. Атаманюк^{1,2}, Н.А. Обвинцева¹, Е.А. Пряхин¹

¹Уральский научно-практический центр радиационной медицины ФМБА России, Челябинск, Россия

²Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия
e-mail: atamanyuk@urcrm.ru

Резюме. При фракционированном гамма-облучении мышей в кумулятивной дозе 5 Гр отмечено снижение активности животных в тесте закапывания стеклянных шариков. При 4-кратном введении мельдония и этилметилгидроксипиридина сукцината во время облучения поведение животных в тесте закапывания стеклянных шариков не имеет статистически значимых отличий от необлученного контроля. Показана возможность применения данного лекарственного препарата для модификации радиационно-индуцированные изменения поведения мышей.

Ключевые слова: фракционированное облучение, тест закапывания стеклянных шариков, тревожность, когнитивная функция, этилметилгидроксипиридина сукцинат

INFLUENCE OF A COMBINED PREPARATION MELDONIUM AND ETHYLMETHYLHYDROXYPYRIDINE SUCCINATE ON RADIATION-INDUCED BEHAVIOR CHANGES IN MICE

N.I. Atamanyuk^{1,2}, N.A. Obvintseva¹, E.A. Pryakhin¹

¹Urals research center for radiation medicine, Chelyabinsk, Russia

²Chelyabinsk state university, Chelyabinsk, Russia
e-mail: atamanyuk@urcrm.ru

Summary. Mice exposed to fractionated gamma irradiation to a cumulative dose of 5 Gy exhibit reduced activity in the marble-burying test. With 4-fold administration of meldonium and ethylmethylhydroxypyridine succinate during fractionated irradiation, the behavior of animals in the glass bead instillation test does not have statistically significant differences from the non-irradiated control. The possibility of using this drug to modify radiation-induced changes in the behavior of mice has been demonstrated.

Key words: fractionated irradiation, marble-burying test, anxiety, cognitive function, ethylmethylhydroxypyridine succinate

Изучение эффектов ионизирующего излучения со стороны высшей нервной деятельности и психических функций человека важно для обеспечения радиационной безопасности человека при медицинском облучении, профессиональном облучении, в том числе при выполнении космических миссий вне магнитного поля Земли, при радиоактивном загрязнении окружающей среды.

Высокие дозы ионизирующего излучения в режиме острого облучения являются признанным фактором риска для развития когнитивной дисфункции и тревожных расстройств у человека и экспериментальных животных, тогда как данных о действии пролонгированного или хронического облучения, а также о возможностях модификации выявляемых эффектов гораздо меньше [1]. Цель данной работы: изучить возможность модификации радиационно-индуцированных изменений поведения у мышей C57Bl/6 при фракционированном гамма-облучении в кумулятивной дозе 5 Гр в течение 1-го месяца жизни.

Работа выполнялась на мышах линии C57Bl/6 (питомник SPF-вивария ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск). Было сформировано 4 экспериментальные группы: 1) животные, облученные в кумулятивной дозе 5 Гр, получавшие во время облучения инъекции

комбинированного препарата мельдония и этилметилгидроксипиридина сукцината (®Брейнмакс); 2) животные, подвергавшиеся ложному облучению и получавшие инъекции комбинированного препарата мельдония и этилметилгидроксипиридина сукцината (®Брейнмакс); 3) животные, облученные в кумулятивной дозе 5 Гр, получавшие во время облучения инъекции воды; 4) животные, подвергавшиеся ложному облучению и получавшие инъекции воды.

Животных подвергали общему внешнему гамма-облучению с рождения в течение месяца в суммарной дозе 5 Гр. Доза была разделена на 20 фракций по 0,25 Гр. Облучение проводили на установке ИГУР-1М (ЗАО «Квант», Россия), имеющей 4 ^{137}Cs -источника, мощность дозы 0,91 Гр/мин, неравномерность гамма-поля в рабочем пространстве не более 10 %. Для облучения мышей помещали внутрь установки в домашних клетках, удаляя из них на время облучения кормящих самок. Аналогичные процедуры проводили с животными группы ложного облучения (0 Гр), не приводя источники установки в рабочее состояние.

Введение комбинированного препарата мельдония и этилметилгидроксипиридина сукцината или воды проводили 4-кратно: за 30 мин до первой фракции облучения новорожденным мышам внутрисердечно, далее через каждые 7 дней внутрибрюшинно за 30 минут до облучения. Для введения использовали раствор для внутривенного и внутримышечного введения ®Брейнмакс в концентрации мельдоний 50 мг/кг + этилметилгидроксипиридина сукцинат 50 мг/кг (максимальная терапевтическая доза для человека с учетом коэффициента для межвидового переноса доз относительно площади поверхности тела, равного для мыши трем).

В возрасте 28-30 суток мышей рассаживали по 10 особей одного пола в отдельные клетки. Животные содержались на стандартном рационе с неограниченной подачей корма и питьевой воды при постоянной температуре воздуха 22 ± 2 °С. Для поведенческого тестирования из каждой экспериментальной группы было отобрано не менее 40 самок одного возраста.

Для оценки поведения мышей был использован тест на закапывание стеклянных шариков. Тестирование проводили в возрасте 30-33 суток, через 1-3 дня после последнего облучения.

Для теста закапывания шариков пластиковые ящики размером 30х30х30 см наполняли древесным подстилочным материалом, используемым для разведения и содержания лабораторных животных, слоем 5 см. На подстил в центре ящика равноудаленно друг от друга раскладывали 9 стеклянных шариков диаметром 1,5 см. Тестирование проводили в затененной комнате без посторонних звуков. Мышей помещали в индивидуальные ящики на 30 минут. По истечении этого времени фиксировали результаты на фотокамеру и подсчитывали число закопанных шариков. Закопанными считали шарики, погруженные в подстил на 2/3 и более [2].

Тест закапывания шариков рассматривают как способ оценки обсессивно-компульсивного поведения у грызунов, связанного с навязчивыми действиями, которые направлены на снижение тревоги. Отмечается, что закапывание изначально нейтральных предметов характеризует неофобное поведение, усиливающееся после анксиогенных стрессовых воздействий [3].

В проведенных ранее нами исследованиях было отмечено, что при облучении по описанной выше схеме в кумулятивной дозе 5 Гр животные проявляют пониженную активность в тесте закапывания шариков, закапывая в среднем в 3 раза меньше шариков, чем в группе ложного облучения 0 Гр [4]. Также ранее было отмечено, что стрессовая реакция на манипуляции, связанные с длительной процедурой облучения новорожденных животных, может маскировать влияние радиационного фактора на исследуемые радиационно-индуцированные поведенческие реакции у самцов. Поэтому в данной работе проводили исследование на самках.

В данной работе также было отмечено снижение активности самок, облученных в дозе 5 Гр и получавших инъекции воды, по сравнению с самками группы ложного облучения, также получавших воду: облученные животные закапывали в среднем $2,0 \pm 0,3$ шарика против $3,5 \pm 0,3$ шариков в контрольной группе ($t_{116}=3,7$; $p<0,001$). Снижение числа закопанных шариков может быть интерпретировано как снижение интереса к новым объектам и связанного с ними беспокойства.

Применение комбинированного препарата мельдония и этилметилгидроксипиридина сукцината у ложно облученных животных вызвало увеличение активности в данном тесте: было закопано в среднем $5,0 \pm 0,3$ шарика (отличия от группы 0 Гр с инъекциями воды статистически значимы, $t_{86}=2,8$; $p<0,001$).

При облучении в дозе 5 Гр препарат мельдония и этилметилгидроксипиридина сукцината также способствовал повышению активности животных: было закопано $3,2 \pm 0,4$ шарика, что не имеет статистически значимых отличий от значения этого показателя в группе контроля (0Гр + вода), но выше, чем в группе облученных животных, получавших вместо препарата воду ($t_{115}=2,6$; $p=0,01$).

Таким образом, 4-кратное введение во время фракционированного облучения комбинированного препарата мельдония и этилметилгидроксипиридина сукцината, обладающего антиоксидантным, стресс-протекторным, ноотропным, анксиолитическим действием, модифицирует радиационно-индуцированные изменения поведения мышей, выявляемые в тесте закапывания стеклянных шариков.

1. Pasqual E., Boussin F., Bazyka D., et al. Cognitive effects of low dose of ionizing radiation – Lessons learned and research gaps from epidemiological and biological studies // *Environ Int.* 2021. V. 147. P. 106295. doi: 10.1016/j.envint.2020.106295. Epub 2020 Dec 17.
2. Нотова С. В., Казакова Т. В., Маршинская О. В. Современные методы и оборудование для оценки поведения лабораторных животных (обзор) // *Животноводство и кормопроизводство.* 2018. Т. 101. №. 1. С. 106-115.
3. de Brouwer G., Fick A., Harvey B.H., Wolmarans W. A critical inquiry into marble-burying as a preclinical screening paradigm of relevance for anxiety and obsessive-compulsive disorder: Mapping the way forward // *Cogn Affect Behav Neurosci.* 2019. V. 19(1). P. 1-39. doi: 10.3758/s13415-018-00653-4.
4. Атаманюк Н.И., Обвинцева Н.А., Перетыкин А.А., Пряхин Е.А. Зависимость тревожного поведения у мышей от дозы при фракционированном гамма-облучении в первый месяц жизни // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2023. Том 176, № 12. С. 698-702. doi: 10.47056/0365-9615-2023-176-12-698-702.

РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ И РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В ОРГАНАХ ДЫХАНИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ В ПОСТРАДИАЦИОННЫЙ ПЕРИОД ПОСЛЕ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ

М.Ю. Баранцева, Л.Н. Мухамедиева, Д.С. Озеров, А.В. Шафиркин

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, Россия
e-mail: barantseva@imbp.ru

Резюме. Проведены экспериментальные исследования на лабораторных животных по изучению радиобиологических эффектов в восстановительном периоде после изолированного и сочетанного действия химического и радиационного факторов, характерных для длительных пилотируемых полетов. Установлено, что пострadiaционный период после сочетанного воздействия факторов характеризовался сохранением признаков повреждения клеток эпителиального слоя бронхов и развития фиброза в легочной паренхиме (достоверное увеличение толщины межальвеолярных перегородок и снижение доли эпителиальной выстилки в бронхах).

Ключевые слова: радиобиологические эффекты, химические вещества, органы дыхания, морфометрические показатели, цитокины

RADIOBIOLOGICAL EFFECTS OF PROINFLAMMATORY AND REPARTIVE PROCESSES IN THE RESPIRATORY ORGANS OF LABORATORY ANIMALS IN THE POST-RADIATION PERIOD AFTER GAMMA IRRADIATION

M. Yu. Barantseva, L.N. Mukhamedieva, D.S. Ozerov, A.V. Shafirkin

Federal State Budgetary Institution of Science State Scientific Center of the Russian Federation – Institute of Medical and Biological Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
e-mail: barantseva@imbp.ru

Summary. Experimental studies were carried out on laboratory animals to study radiobiological effects in the recovery period after isolated and combined effects of chemical and radiation factors characteristic of long-term manned flights. It was established that the post-radiation period after the combined influence of factors was characterized by the preservation of signs of damage to the cells of the epithelial layer of the bronchi and the development of fibrosis in the pulmonary parenchyma (a significant increase in the thickness of the interalveolar septa and a decrease in the proportion of the epithelial lining in the bronchi).

Key words: radiobiological effects, chemicals, respiratory organs, morphometric indicators, cytokines

Изучение радиобиологических эффектов при изолированном и сочетанном воздействии ионизирующего излучения и смеси химических веществ, основанное на исследовании цитокиновой регуляции местных иммунных реакций и морфометрических проявлений повреждения и репарации в органах дыхания необходимо для обеспечения радиационной безопасности длительных космических полетов.

Цель: исследование морфологических и иммунохимических изменений в органах дыхания животных в период пострadiaционного восстановления после гаммы облучения и ингаляционного воздействия смеси химических веществ для оценки адаптационных процессов, и устойчивости организма к сочетанному действию негативных факторов.

Эксперименты проведены на 90 половозрелых крысах-самцах линии Wistar в строгом соответствии с основными биоэтическими правилами лабораторной практики, принятыми в Российской Федерации и требованиями Всемирного общества защиты животных (WSPA). Животные подвергались изолированному и сочетанному воздействию основных неблагоприятных факторов космических полетов (комбинированное ингаляционное воздействие химических веществ на уровне ПДК_п, фракционированное гамма-облучение в суммарной эффективной дозе 245сГр). Длительность экспериментов составляла 30-60 суток с восстановительным периодом до 90 суток.

Для оценки динамики развития провоспалительных и репаративных процессов в слизистой оболочке бронхов и легочной паренхиме проводили иммунохимические исследования (активность про- и противовоспалительных цитокинов TNF α , IL-4, IL-10, TGF β ₁, IL-1 β , IL-6), результаты которых подтверждались морфометрическими методами (доля эпителиальной выстилки в бронхах, площадь ядер эпителия бронхов, толщина межальвеолярных перегородок).

На первые сутки после воздействия фракционированного гамма-облучения в суммарной эффективной дозе 245 сГр установлено повышение активности провоспалительных (TNF α), и противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10) на фоне развития воспалительных процессов и повреждения альвеолоцитов в легочной ткани (увеличение доли эпителиальной выстилки в бронхах и респираторных бронхиолах, истончение межальвеолярных перегородок), уменьшения площади ядер эпителиальных клеток слизистой оболочки бронхов, свидетельствуя о повреждении молекул ДНК гамма-облучением, и снижении пролиферативной активности клеточных структур. К 90-м суткам восстановительного периода сохранялось только уменьшение площади ядер эпителиальных клеток слизистой оболочки бронхов. Активность показателей провоспалительных процессов не отличалась от контрольной группы.

Цитокиновая регуляция процессов повреждения и репарации после ингаляционного воздействия химических веществ в низких концентрациях характеризовалась повышением активности противовоспалительных цитокинов (IL-4, TGF β ₁), направленных на элиминацию поврежденных клеток и ремоделирование легочной ткани. Повреждение клеток эпителиальной выстилки бронхов характеризовались изменениями в структуре эпителиального слоя в виде снижения доли эпителиальной выстилки и площади ядер клеток эпителия, что возможно связано со снижением высоты многоядного мерцательного эпителия вследствие его десквамации. Снижение площади ядер клеток эпителия, по-видимому, является следствием снижения пролиферативной активности клеточных структур. Отсутствие признаков развития воспалительных процессов в легочной ткани подтверждено морфометрическими исследованиями: изменения толщины межальвеолярной перегородки не наблюдалось.

Достоверное повышение уровня трансформирующего фактора роста TGF β ₁ в легочной ткани к 90-м суткам восстановительного периода может свидетельствовать о сохранении профибротической активности в легких.

Радиобиологические эффекты после воздействия смеси химических веществ на фоне пострадиационного восстановления проявлялись в большей степени в восстановительном периоде.

Так к 15 суткам периода восстановления наблюдалось повышение активности IL-4, свидетельствуя о возможном развитии воспаления в слизистой оболочке бронхов и легочной ткани, характерном для воздействия химических веществ. Реакции в легочной паренхиме проявлялись истончением межальвеолярных перегородок.

К 90-м суткам восстановительного периода, на фоне отсутствия значимых изменений цитокиновой активности в легочной ткани, наблюдалось достоверное снижение доли эпителиальной выстилки в бронхах, что может быть связано с

развитием атрофического воспаления, гибели эпителиальных клеток вследствие активации апоптоза. Достоверное увеличение толщины межальвеолярных перегородок, в этот период исследований может свидетельствовать о развитии фиброза в легочной ткани.

Таким образом, радиобиологические эффекты при сочетанном воздействии факторов определялись в большей степени в восстановительном периоде. Показано сохранение признаков повреждения клеток эпителиального слоя бронхов и развитие фиброза в легочной паренхиме (достоверное увеличение толщины межальвеолярных перегородок и снижение доли эпителиальной выстилки в бронхах).

При выборе противолучевых средств необходимо учитывать реакции организма в восстановительном периоде на фоне сочетанного действия факторов химической и радиационной природы.

О ВОЗМОЖНОСТИ МОДИФИЦИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ЛУННОЙ ПЫЛИ НА ЭФФЕКТЫ РАДИАЦИИ У КОСМОНАВТОВ ПРИ ОСВОЕНИИ ЛУНЫ

V.A. Barinov¹, I.B. Ushakov²

¹Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

²Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия
e-mail: vladbar.57@yandex.ru

Резюме. Проведен анализ современных представлений о способности лунной пыли модифицировать детерминированные и стохастические биологические эффекты радиации у участников будущих экспедиций на Луну. Показана возможность синергизма ингалированной лунной пыли и высокоэнергетических заряженных частиц космического излучения в отношении риска развития таких отдаленных эффектов, как злокачественные опухоли легких и органов желудочно-кишечного тракта, а также кардиофиброз и нейродегенеративные заболевания.

Ключевые слова: космическое излучение, лунная пыль, биологическое действие, синергические эффекты, здоровье космонавтов, рак легкого.

ON THE POSSIBLE MODIFYING EFFECT OF MOON DUST ON THE EFFECTS OF RADIATION IN ASTRONAUTS PARTICIPATING IN THE EXPLORATION OF THE MOON

V.A. Barinov¹, I.B. Ushakov²

¹Scientific and Clinical Center of Toxicology named after Academician S.N. Golikov of FMBA of Russia, St. Petersburg, Russia

²State scientific center – A. I. Burnazyan Federal medical biophysical center of FMBA of Russia, Moscow, Russia
e-mail: vladbar.57@yandex.ru

Summary. The analysis of modern ideas about the ability of moon dust to modify the deterministic and stochastic biological effects of radiation in participants of future expeditions to the Moon is carried out. The possibility of synergism of inhaled lunar dust and high-energy charged particles of cosmic radiation in relation to the risk of developing such long-term effects as malignant tumors of the lungs and organs of the gastrointestinal tract, as well as cardiofibrosis and neurodegenerative diseases is shown.

Key words: cosmic radiation, moon dust, biological action, synergistic effects, health of astronauts, lung cancer.

В программах освоения Луны человеком большое внимание уделяется различным аспектам обеспечения радиационной безопасности, в том числе модифицирующему действию на биологические эффекты радиации других факторов, характерных для лунной среды. Среди таких факторов важное место отводят лунной пыли (ЛП), которая неизбежно будет заноситься в среду обитания космонавтов при осуществлении ими деятельности на поверхности Луны. В этой связи актуальным является оценка возможного характера влияния ЛП на биологические эффекты космического излучения (КИ) при разных вариантах продолжительности и интенсивности воздействия данных факторов. Другой аспект проблемы представляет оценка возможного модифицирующего влияния ЛП на радиационные воздействия, связанные с транспортировкой и использованием в лунных экспедициях техногенных источников ионизирующего излучения, таких как радиоизотопные термоэлектрические генераторы (РИТЭГ). Решение этих задач позволит обосновать соответствующие организационно-технические и лечебно-профилактические

мероприятия по обеспечению радиационной и токсикологической безопасности, осуществление которых необходимо при освоении Луны.

Цель исследования - на основе анализа современных представлений о биологических эффектах КИ и ЛП оценить возможность синергизма при сочетанном действии этих факторов в отношении ближайших и отдаленных последствий для здоровья космонавтов в результате их деятельности по освоению Луны.

Судя по опыту лунных миссий программы «Аполлон», относительно непродолжительный контакт астронавтов с лунной пылью приводил, в основном, к аллергическими реакциям и клиническим проявлениям местного раздражающего действия пыли на слизистые глаз, носоглотки, верхних и средних отделов трахеобронхиального дерева [1]. Многократные и продолжительные контакты с лунной пылью в условиях длительного пребывания человека на Луне повышают медицинские риски и могут способствовать развитию отставленных и отдаленных последствий, включая фиброзные изменения в легких, пневмокониоз, силикосиликатоз, онкологическую патологию легких, органов желудочно-кишечного тракта, кардиофиброз и нейродегенеративные заболевания [2, 3].

Важное значение для оценки способности инкорпорированной ЛП модифицировать биологические эффекты КИ имеет анализ ожидаемых уровней дозовых нагрузок и особенностей их формирования в условиях сочетанного действия указанных факторов. Дозы облучения астронавтов программы «Аполлон» в периоды внекорабельной деятельности и в целом за все время их пребывания на Луне, вследствие кратковременности экспедиций и отсутствия солнечных вспышек, были не столь значительными. По данным NASA, при пребывании астронавтов на Луне от 6 до 12,5 суток полученные дозы радиации составляли суммарно за всю миссию от 6 до 40 мЗв [4]. Результаты дозиметрических измерений китайской автоматической станции "Чанъэ-4" (Chang'E-4), работавшей на Луне в 2019 году, показали, что значения мощности дозы на поверхности составляли 60 мкЗв/час, то есть радиационный фон был примерно в 200 раз выше, чем на поверхности Земли. При отсутствии вспышек солнечной активности расчетная средняя суточная доза для человека в этих условиях составляет величину порядка 1,4 мЗв. При вспышках солнечной активности значения доз могут достигать 20 мЗв в сутки и более. В условиях кратковременных экспедиций, с учетом противорадиационной защиты лунных модулей, даже при неблагоприятном стечении обстоятельств, когда пик вспышки придется на периоды пребывания космонавтов на Луне и/или их эвакуации на Землю, максимальные значения доз не должны превысить 500 мЗв и привести к развитию клинически значимых проявлений детерминированных эффектов радиации. В долгосрочных экспедициях работа космонавтов-колонистов Луны будет регламентироваться установленными для них режимами труда и отдыха, предусматривающими 8-часовой рабочий день с нахождением в это время на поверхности Луны. Остальное время космонавты будут находиться в защищенных помещениях лунной базы. При отсутствии вспышек солнечной активности дозовые нагрузки будут сопоставимы с дозами, получаемыми космонавтами на орбитальных станциях. В любом случае ожидаемые дозы облучения не должны превышать дозовых пределов, направленных на предотвращение детерминированных эффектов КИ. Учитывая различия в критических органах для КИ и ЛП, вопрос о синергизме этих факторов в отношении детерминированных эффектов может быть актуальным и иметь практическое значение только при незапланированном облучении вследствие сверхмощной солнечной вспышки или при какой-либо другой «запроектной» аварии, например, связанной с повреждением РИТЭГа.

Более вероятно следует рассматривать синергизм в действии ЛП и КИ в отношении возрастания риска развития отдаленных стохастических эффектов после возвращения космонавтов на Землю из долгосрочных лунных экспедиций, либо при последующем за лунным этапом межпланетном пилотируемом полете на Марс тех же

космонавтов. Являясь разными по природе факторами, КИ и ЛП имеют во многом общие механизмы повреждающего действия на клетки и их ядерный аппарат, связанные, в частности, с гиперпродукцией гидроксильного радикала и других активных форм кислорода [2, 3]. Хотя для высокоэнергетических заряженных частиц галактического и солнечного КИ наиболее существенными являются эффекты прямого повреждающего действия на ядерные и митохондриальные ДНК, с высокой вероятностью двунитиевых разрывов, активация свободнорадикальных процессов при инкорпорации ЛП в организм может способствовать накоплению ошибок репарации и повышению риска развития канцерогенеза. Прежде всего, это может касаться легких, как органа с наиболее высокой вероятностью индукции смертельных злокачественных опухолей от действия высокоэнергетических заряженных частиц галактического КИ [5], и органов желудочно-кишечного тракта. Поскольку экспериментально показана возможность инкорпорированной в результате продолжительной ингаляции мельчайшей фракции симуляторов ЛП приводить к кардиофиброзу и провоцировать развитие нейродегенеративных заболеваний, могут обсуждаться варианты потенцирования лунной пылью радиационно-индуцированных отдаленных дегенеративных изменений у будущих космонавтов-колонистов Луны и участников межпланетных пилотируемых полетов.

При медико-биологических исследованиях, доставленных на Землю оригинальных образцов ЛП следует предусмотреть серию экспериментов, адекватно моделирующих разные варианты сочетанного действия на организм лабораторных животных обоих исследуемых факторов, с пожизненным наблюдением за животными и их потомством в первых двух поколениях для выявления соматических и наследуемых эффектов.

1. Scully R.R., Meyers V.E. Risk of adverse health and performance effects of celestial dust exposure. NASA, 2015.
2. Баринов В.А., Ушаков И.Б. Токсикология лунной пыли в аспекте возможной профессиональной патологии космонавтов - участников экспедиции на Луну. Медицина труда и промышленная экология. 2022, т. 62, № 2, с. 72–90. DOI: <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2022-62-2-72-90>.
3. Caston R., Luc K., Hendrix D., Hurowitz J.A., Demple B. Assessing toxicity and nuclear and mitochondrial DNA damage caused by exposure of mammalian cells to Lunar regolith simulants. *Geohealth*, 2018, vol. 2, no. 4, pp. 139–148. DOI: 10.1002/2017GH000125.
4. Орлов О.И., Панасюк М.И., Шуршаков В.А. Радиационный фактор при лунных миссиях. *Авиакосмическая и экологическая медицина*, 2019, т. 53, № 4, с. 5-18. DOI: 10.21687/0233-528X-2019-53-4-5-18.
5. Barcellos-Hoff M.H., Blakely E.A., Burma S., Fornace Jr A.J., Gerson S., Hlatky L., Kirsch D.G., Luderer U., Shay J, Wang Y., et al. Concepts and challenges in cancer risk prediction for the space radiation environment. *Life Sci Space Res (Amst)*, 2015, vol. 6, pp. 92–103. DOI: 10.1016/j.lssr.2015.07.006.

ПОВРЕЖДЕНИЕ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА ПРИ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ И СПОСОБЫ ЕГО ЗАЩИТЫ

Е.М. Белоус

Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь
e-mail: katy.belous@mail.ru

Резюме. Повреждение тонкого кишечника при лучевой терапии – это серьезное осложнение, которое может значительно ухудшить качество жизни пациентов, проходящих лечение от онкологических заболеваний. Несмотря на прогресс в методах лучевой терапии, проблема радиационного энтерита остается актуальной. В настоящее время лучевая терапия применяется при лечении широкого спектра онкологических заболеваний, в том числе рака органов брюшной полости и таза, что повышает риск повреждения тонкого кишечника.

Ключевые слова: лучевая терапия, лучевой энтерит, ионизирующее излучение, тонкий кишечник, слизистая оболочка.

DAMAGE TO THE SMALL INTESTINE DURING RADIATION THERAPY AND ITS PROTECTIVE EFFECT

E.M. Belous

Gomel State Medical University, Gomel, Belarus
e-mail: katy.belous@mail.ru

Resume. Damage to the small intestine during radiation therapy is a serious complication that can significantly worsen the quality of life of patients undergoing treatment for cancer. Despite the progress in radiation therapy methods, the problem of radiation enteritis remains relevant. Currently, radiation therapy is used in the treatment of a wide range of oncological diseases, including cancer of the abdominal cavity and pelvis, which increases the risk of damage to the small intestine.

Key words: radiation therapy, radiation enteritis, ionizing radiation, small intestine, mucous membrane.

Лучевая терапия является основой онкологического лечения различных злокачественных заболеваний и обычно применяется в брюшной полости и малом тазу пациентам с раком желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), урологическими и гинекологическими заболеваниями. Кишечник располагается в брюшной полости и малом тазу и из-за большой площади поверхности его невозможно защитить, поэтому случайное облучение или лучевая терапия опухолей брюшной полости / малого таза неизбежно приведет к облучению кишечника, что может вызвать энтеротоксичность.

Цель работы является изучение вопросов, посвященных вопросам повреждению тонкого кишечника при лучевой терапии и его защитному действию.

«Лучевой энтерит» – это термин, часто используемый для определения повреждения тонкой кишки в результате лучевой терапии. Близкое расположение толстой и прямой кишки к тонкой кишке может приводить к радиационно-индуцированному повреждению желудочно-кишечного тракта. Лучевое поражение тонкой кишки можно разделить на острую и хроническую формы. Острое радиационно-индуцированное заболевание тонкой кишки обычно проявляется коликообразными болями в животе, вздутием живота, потерей аппетита, тошнотой, диареей [1].

Ионизирующее излучение вызывает некоторые изменения в тканях тонкого кишечника. Они характеризуются воспалением или гибелью клеток, включая потерю клеток слизистой оболочки, острое воспаление в собственной пластинке, образование абсцесса эозинофильной крипты и отек эндотелиальной оболочки артериол. Они могут перерасти в более хронические изменения с персистирующей активацией цитокинов в подслизистой оболочке и фиброзом соединительной ткани с артериолярным

эндартеритом. Эти изменения приводят к ишемии тканей, что приводит к рыхлости слизистой оболочки и неоваскуляризации, а также к прогрессирующему фиброзу, что может привести к множественным областям дисфункции тонкой кишки, а также к структурирующему заболеванию.

Эпителиальные клетки слизистой оболочки тонкого кишечника вместе с базальной мембраной составляют механический барьер кишечного эпителия. Эпителий кишечника состоит из большого количества повторяющихся, непрерывно самообновляющихся крипто-ворсинок. Кишечные стволовые клетки в криптах считаются источником всех клеток кишечника и могут дифференцироваться в различные функциональные клетки во время миграции по оси ворсинок. Стволовые клетки делятся и продуцируют транзитные амплифицирующие клетки (ТА-клетки), которые затем дифференцируются вниз в клетки Панета и вверх в бокаловидные клетки, энтероэндокринные клетки и кишечные абсорбирующие клетки. Эпителий тонкой кишки обновляется очень быстро и чрезвычайно чувствителен к радиации, которая нарушает его целостность. Это способствует утечке воды, электролитов и белка в полость кишечника, а также увеличивает вероятность контакта кишечного эпителия с патогенными микроорганизмами, что усугубляет воспалительную реакцию кишечного тракта, приводя к сепсису и смерти. В тонком кишечнике после повреждения наблюдается потеря эпителия, уменьшение количества крипт, укорочение ворсинок, увеличение количества бактериальных колоний в брыжеечных лимфатических узлах что указывает на нарушение механического барьера кишечника и кишечную дисфункцию. В ворсинках тонкой кишки имеется множество капилляров, которые транспортируют питательные вещества по всему организму и кислород в тонкую кишку. Капилляры состоят только из одного слоя эндотелиальных клеток сосудов, которые чрезвычайно чувствительны к ионизирующему излучению. Радиация повреждает эндотелиальные клетки сосудов различными способами, что приводит к набуханию эндотелиальных клеток, повышенной проницаемости, адгезии и миграции воспалительных клеток и микротромбозу микрососудов [2].

Токсичность для желудочно-кишечного тракта в результате лучевой терапии ниже у пациентов, принимающих антигипертензивные средства и средства, снижающие уровень холестерина (ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента [АПФ] и статины). Ингибиторы АПФ блокируют ферментативное превращение ангиотензина I в ангиотензин II, который играет решающую роль в гомеостазе артериального давления. Исследования *in vitro* подтвердили противовоспалительный, противofiбротический и антитромботический потенциал статинов в облученных клетках человека [Gaugler et al. 2005; Haydont et al. 2005, 2007], и было показано, что ловастатин в низких дозах обладает радиопротекторным действием на эндотелиальные клетки человека [Ostrau et al. 2009].

Применение статинов или статинов + ингибитор АПФ во время радикальной лучевой терапии органов малого таза значительно уменьшало острые симптомы желудочно-кишечного тракта.

Препарат, содержащий жизнеспособные и определенные микроорганизмы в большом количестве, достаточном для изменения микрофлоры хозяина является пробиотик. Было проведено в общей сложности пять рандомизированных контролируемых исследований различного качества и объема, касающихся пробиотиков при радиационно-индуцированных заболеваниях тонкой кишки [Салминен и др.. 1988; Делия и др.. 2007; Урбанчек и др.. 2001; Хиральт и др.. 2008; Читанпанарук и др.. 2010]. Исследуемые препараты включают пробиотический препарат содержащий восемь штаммов живых молочнокислых бактерий и бифидобактерий и живую лактобациллу ацидофилин плюс бифидобактерию бифидум.

Амифостин является цитопротекторным адьювантом, используемым в химиотерапии рака. Снижает частоту ксеростомии при введении перед лучевой терапией рака головы и шеи [Jha et al. 2012]. Предварительные исследования показывают, что амифостин также может защищать от радиационно-индуцированной токсичности

кишечника [Athanasidou et al. 2003; Бен-Джозеф et al. 2002; Leonard et al. 2005], но необходимы дальнейшие исследования, чтобы определить его истинную ценность.

Предполагается, что цитотоксическое воздействие ионизирующего излучения на эпителий желудочно-кишечного тракта связано с окислительным стрессом. Исследования на животных показали, что прием витамина Е и / или селена перед лучевой терапией помогает минимизировать окислительный стресс [Felemovicius et al. 1995; Mutlu-Türkoğlu et al. 2000], что указывает на то, что предварительная антиоксидантная обработка может оказывать некоторое благоприятное воздействие на радиационно-индуцированное повреждение кишечника [Emrey et al. 1992]. Требуются дальнейшие исследования этих препаратов.

Тедуглутид представляет собой аналог глюкагоноподобного пептида-2. Исследования на животных показали повышенную выживаемость стволовых клеток крипт кишечника при введении мышам до облучения всего тела [Booth et al. 2004]. Теоретически это позволяет предположить, что оно может выполнять полезную защитную роль в предотвращении радиационно-индуцированного повреждения кишечника, но у людей требуется дальнейшая работа.

Было показано, что глутамин и аргинин оказывают защитное действие на слизистую оболочку кишечника крыс, получавших лучевую терапию [Явас и др. 2012]. Клинические исследования, однако, показали, что глутамин не защищает от острого радиационно-индуцированного заболевания тонкой кишки у людей [Козельский и др. 2003; Vidal-Casariego и др. 2013].

Сукральфат – это полианионный дисахарид с высоким содержанием сульфатов, используемый для лечения диспепсии. Считается, что оно стимулирует заживление эпителия и формирует защитный барьер над поврежденными поверхностями слизистой оболочки [Дентон и др. 2002]. Имеются рандомизированные контролируемые доказательства того, что сукральфат может помочь в лечении кровотечений при лучевом проктите, но нет доказательств того, что он полезен для профилактики радиационно-индуцированных заболеваний тонкой кишки [1].

Таким образом, лучевая терапия может вызывать повреждение клеток тонкого кишечника, приводящее к воспалению, фиброзу и нарушению его функций. Развитие радиационного энтерита зависит от дозы облучения, области облучения, возраста пациента, состояния иммунной системы и наличие сопутствующих заболеваний. Использование защитных средств, применение противовоспалительных и антиоксидантных препаратов являются профилактическими мерами радиационного энтерита.

1. *Rhodri Stacey* Radiation-induced small bowel disease: latest developments and clinical guidance / Rhodri Stacey, John T. Green // *Therapeutic Advances in Chronic Disease*. – 2014. – №5 (1). – P. 15–29.
2. *Qianying Lu* Radiation-Induced Intestinal Injury: Injury Mechanism and Potential Treatment Strategies / Qianying Lu [et al.] // *Therapeutic Advances in Chronic Disease*. – 2023. – №11 (12). – P. 1011.

МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ АРАЦ ПРИ ОБЛУЧЕНИИ ПРОТОНАМИ КЛЕТОК КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА В УСЛОВИЯХ *IN VIVO* И *EX VIVO* НА РОСТ СОЛИДНОЙ ОПУХОЛИ У МЫШЕЙ

*Т.А. Белякова*¹, *О.М. Розанова*¹, *Е.Н. Смирнова*¹, *Н.С. Стрельникова*², *Е.А. Красавин*³,
*А.В. Борейко*³

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

² Филиал “Физико-технический центр” Федерального государственного бюджетного учреждения науки Физического института им. П. Н. Лебедева РАН, Протвино, Россия

³ Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия
e-mail: belyakovatanya@mail.ru

Резюме. Исследовано модифицирующее действие АраЦ при облучении протонами асцитной карциномы Эрлиха (АКЭ) в условиях *in vivo* и *ex vivo* на индукцию и рост инокулированных опухолей у мышей. Показано уменьшение скорости роста опухолей после облучения протонами в присутствии АраЦ как в условиях *in vivo*, так и *ex vivo*. Наиболее выраженные противоопухолевые эффекты АраЦ в комбинации с протонным излучением выявлены при облучении асцитных клеток *ex vivo*. Это может указывать на отличие в действии АраЦ на клетки, облучаемые *in vivo* и *ex vivo*, как на этапе первичного онкогенеза, так в процессе развития сформировавшегося новообразования. Также необходимо учитывать влияние условий инкубации, облучения и концентрации АраЦ.

Ключевые слова: асцитная карцинома Эрлиха, протоны, *ex vivo*, *in vivo*, 1-β-D-арабинофуранозилцитозин, мыши.

MODIFYING EFFECT OF ARAC ON THE GROWTH OF THE SOLID TUMOR EHRLICH CARCINOMA IN MICE UNDER *IN VIVO* AND *EX VIVO* PROTON IRRADIATION OF CELLS

*Т.А. Белякова*¹, *О.М. Розанова*¹, *Е.Н. Смирнова*¹, *Н.С. Стрельникова*², *Е.А. Красавин*³,
*А.В. Борейко*³

¹ Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of RAS, Pushchino, Russia

² Branch “Physical-Technical Center” of P.N. Lebedev Physical Institute of RAS, Protvino, Russia

³ Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, Russia

e-mail: belyakovatanya@mail.ru

Summary. The modifying effect of AraC upon irradiation with proton of Ehrlich ascites carcinoma (EAC) cells under *in vivo* and *ex vivo* conditions on the induction and growth of tumors in mice was studied. A decrease in tumor growth rate after proton irradiation in the presence of AraC under both *in vivo* and *ex vivo* conditions has been shown. The most pronounced antitumor effects of AraC in combination with proton irradiation were revealed at irradiation of ascites cells *ex vivo*, which may indicate a difference in the effect of AraC on the cells, irradiated *in vivo* and *ex vivo*, both at the stage of primary oncogenesis and during development of the formed neoplasm, and it is also necessary to take into account the influence of incubation conditions, irradiation and concentration of AraC.

Key words: Ehrlich ascites carcinoma, protons, *ex vivo*, *in vivo*, 1-β-D-arabinofuranosylcytosine, mice

Наиболее перспективным и активно развивающимся методом адронной терапии для лечения различных опухолей является протонная терапия (ПТ). Значение ОБЭ протонов, на основании которого планируются дозы для ПТ в клиниках, равно 1,1 что является относительно низким по сравнению, например, с ионами углерода, но в перспективе ПТ имеет существенное преимущество за счет использования технологии тонкого сканирующего пучка, позволяющей проводить высокоточное облучение в пике Брэгга глубоко локализованных опухолей вблизи критических органов и тканей. Для повышения эффективности ПТ продолжается активный поиск химических

радиосенсибилизаторов, из которых наиболее перспективными являются ингибиторы репарации критических повреждений ДНК [1]. Данные об этом классе соединений, усиливающих действие фотонных и протонных излучений (ПИ), показали, что наиболее перспективным для исследования модификации ПИ является ингибитор репарации ДР ДНК 1- β -D-арабинофуранозилцитозин (АраЦ), поскольку его высокая эффективность за счет увеличения количества летальных ДР ДНК показана на многочисленных опухолевых клеточных моделях при культивировании *in vitro* [2]. Ранее также были получены на модели меланомы у мышей данные о существенном усилении противоопухолевого действия ПИ с помощью АраЦ [3].

Целью данной работы было исследование модифицирующего действия АраЦ на противоопухолевое действие ПИ при облучении клеток асцитной карциномы Эрлиха в условиях *in vivo* и *ex vivo* на мышах.

Эксперименты проводили на 2-месячных самцах мышей колонии SHK (31–35 г), которых разводили и содержали в условиях вивария ИТЭБ РАН (Пушино, Московская обл.). Протокол экспериментов (№ 6 от 18.03.2024) был одобрен Комиссией ИТЭБ РАН по биологической безопасности и биотехнике. В качестве модели опухолевого роста использовалась асцитная карцинома Эрлиха (АКЭ), линия опухолевых клеток была получена из криобанка ФГБУН ИБК (Пушино, Россия) и поддерживалась путем внутривентрикулярной (в/вр) перевивки мышам.

Для индукции *in vivo* солидной формы АКЭ мышам в бедро внутримышечно вводили 2×10^6 асцитных клеток в объеме 0,1 мл. Облучение протонами проводили на 5-е сутки после инокуляции АКЭ при пальпации опухолевого узла у всех мышей. За 1 ч до облучения мышам в/вр вводили АраЦ, разведенный 0,9% NaCl, в концентрации 125 мг/кг. Для облучения *ex vivo* суспензию клеток АКЭ в концентрации 20×10^6 клеток/мл (для имплантации 10 мышам) помещали в эппендорфы объемом 1,5 мл. За 1 ч до облучения клеткам при комнатной температуре был добавлен раствор АраЦ в конечной концентрации 125 мг/кг. После облучения суспензии мышам внутримышечно имплантировали в бедро 2×10^6 клеток. Концентрация, растворитель и способ введения АраЦ были выбраны на основе предыдущих работ по изучению влияния разных концентраций и способов введения на выживаемость мышей линии C57Bl/6 и противоопухолевые эффекты при сочетанном действии протонов и АраЦ на клетки меланомы [3]. В каждой группе было не менее 10 мышей и проведено не менее двух независимых экспериментов.

Источником ПИ служил синхротрон в ЦКП «Прометеус» ФТЦ ФИАН (Протвино). Облучение опухолей *in vivo* и суспензии клеток *ex vivo* проводили в водном фантоме с одного направления тонким сканирующим пучком в пике Брэгга в дозе 10 Гр, энергия протонов на выходе составляла 95–104 МэВ, сигма пучка на входе в водный фантом – 2,8–3,6 мм. При составлении плана облучения *in vivo* использовали фактический объем опухоли (GTV), равный среднему объему опухолей в группе $0,47 \pm 0,05$ см³. Для облучения *ex vivo* составляли план с облучаемым объемом 29,2 см³. На уровне 95% изодозы однородность дозы составляла не менее 97% с точностью определения дозы в зоне облучения 3%.

После облучения ежедневно наблюдали за динамикой и скоростью роста солидных опухолей в течение 30–35 сут и оценивали показатели развития новообразования: 1) торможение роста опухоли (ТРО), считая клинически значимым уровень $>50\%$; 2) индекс роста опухоли (ИРО); 3) скорость роста опухоли по среднему относительному объему опухоли и среднему времени пятикратного увеличения опухоли; 4) увеличение продолжительности жизни (УПЖ), клинически значимый уровень считали $>25\%$.

При облучении солидных АКЭ у мышей *in vivo* было установлено статистически значимое подавление роста солидной опухоли АКЭ как после облучения ПИ, так и при комбинированном воздействии с АраЦ, начиная с 5 сут после облучения ($p \leq 0,05$). Наибольшие различия в средних объемах опухолей в группах «10 Гр» и «контроль» были

в 2,4 и 1,9 раза на 5 и 10 сут после облучения, а начиная с 15 сут, наблюдали уменьшение ТРО. Объемы опухолей в группе «АраЦ+10 Гр» отличались от «контроля» в 3,1 и 2,5 раза на 5, 10–15 сут соответственно и в 2 раза на 20 сут. На 25 сут после облучения значение ТРО в обработанных группах было меньше, чем 50%, то есть противоопухолевое действие ПИ и в комбинации с АраЦ на терминальной стадии роста опухоли было клинически не достоверно. Наблюдали снижение площади под кинетической кривой роста опухоли в группе «10 Гр» в 1,7 раз, а в группе «10 Гр+АраЦ» в 2,1 раза по сравнению с контролем. Различия в значениях ИРО для обработанных групп по сравнению с контролем были статистически значимы ($p \leq 0,05$). Выявлено достоверное различие времени 5-кратного увеличения объема опухоли в обработанных группах по сравнению с контролем: в группе «10 Гр» – $16,2 \pm 4,5$ сут, в группе «АраЦ + 10 Гр» – $19,0 \pm 5,7$ сут, в контроле – $10,0 \pm 3,3$ сут. Торможение скорости опухолей в обработанных группах мышей привело к увеличению СПЖ: значение УПЖ в группе «10 Гр» было 32%, а в «АраЦ+10 Гр» – 56%.

После облучения асцитных клеток *ex vivo* подавление роста солидной АКЭ наблюдалось с 5 сут, как в группе только после действия ПИ, так и группе «АраЦ+10 Гр». Наибольшие различия от контроля в средних объемах опухолей наблюдали на начальных этапах роста АКЭ: на 5 сут после облучения в группах «10 Гр» и «АраЦ+10 Гр» различия были в 11 раз, а в группе «АраЦ» объемы опухолей отличались от «контроля» в 7,7 и 6,0 раза на 10 и 15 сут соответственно. Снижение площади под кинетической кривой роста опухолей в группе «10 Гр» было в 1,6 раза, а в группе «АраЦ+10 Гр» в 3 раза относительно контроля. ИРО по сравнению с контролем в группе «10 Гр» был ниже на 39%, а в группе «АраЦ+10 Гр» – на 66%. Так же наблюдали достоверное увеличение среднего времени 5-кратного увеличения объема опухоли в обработанных группах: в группе мышей «10 Гр» – $15,1 \pm 4,2$ сут, в группе «АраЦ + 10 Гр» – $18,3 \pm 6,1$ сут, «АраЦ» – $13,5 \pm 3,2$ сут, а у контроля – $10,0 \pm 3,3$ сут. Значение УПЖ в группе «10 Гр» составило 72%, а при сочетанном воздействии АраЦ+10 Гр эффект был 109,7 %.

В результате проведенных экспериментов было выявлено усиление противоопухолевого действия ПИ в условиях влияния АраЦ, как при облучении *ex vivo*, так и *in vivo*, по всем исследуемым показателям. Радиосенсибилизирующее действие АраЦ при облучении *ex vivo* было более выражено, что является интересным для дальнейшего обсуждения и изучения с точки зрения реализации механизмов действия АраЦ на разных этапах канцерогенеза в зависимости от способов введения, температуры, времени инкубирования и облучения, подбора эффективных концентраций, участия кислородных условий и микроокружения опухоли при облучении *ex vivo* и *in vivo*. Предложенный подход облучения опухолевых клеток вне организма с последующей имплантацией мышам для индукции роста солидной опухоли, использованный для решения задач поиска оптимальных условий для ПТ и исследования механизмов модифицирующего действия АраЦ на противоопухолевые процессы, продемонстрировал новые возможности не только для дальнейшего развития этой модели [4], но и намечил новые пути раскрытия потенциала АраЦ.

Исследования выполнены в рамках договора НИР № 090-02198 с Объединенным институтом ядерных исследований (Дубна, Россия).

1. Газиев А. И. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2014. Т. 54, № 3, с. 229–240.
2. Борейко А. В., Заднепрянец М. Г., Чаусов В. Н., и др. *Письма в ЭЧАЯ*. 2023. Т. 20, № 4(249), с. 698–708.
3. Замулаева И. А., Матчук О. Н., Селиванова Е. И., и др. *Письма в журнал Физика элементарных частиц и атомного ядра*. 2023. Т. 20, №1, с. 70–71
4. Розанова О. М., Смирнова Е. Н., Белякова Т.А., и др. *Биофизика*. 2024. Т. 69, №1, с. 183–192.

**МОДИФИКАЦИЯ ПЕРВИЧНОЙ РАДИАЦИОННОЙ ТОКСЕМИИ
ПУТЕМ ЧАСТИЧНОГО ЭКРАНИРОВАНИЯ ЧАСТЕЙ ТЕЛА КАК ВАЖНЫЙ
КОМПОНЕНТ ПОТЕНЦИРОВАНИЯ ПРОТИВОЛУЧЕВЫХ СВОЙСТВ
РАДИОПРОТЕКТОРОВ**

М.В. Васин, И.Б. Ушаков

ГНЦ – Федеральный медицинский биофизический центр
имени А.И. Бурназяна ФМБА России

Резюме. При определенной большой лучевой нагрузке (более 20 до 50 Гр) первичная радиационная токсемия предопределяет танатогенез острой лучевой болезни, которая клинически представлена в виде токсемической формы. В виде радиотоксинов выявлена группа высокомолекулярных соединений из ряда гликопротеидов, воспроизводящих экспериментально все виды и формы проявления острой лучевой болезни. Установлено двукратное усиление по ФУДу противолучевой эффективности индралин в опытах на собаках при экранировании области живота, устeyaющем «кишечную» токсемию. Снижение первичной радиационной токсемии путем экранирования частей тела позволяет в более полной мере реализации противолучевых свойств радиомодификаторов.

**MODIFICATION OF PRIMARY RADIATION TOXEMIA BY PARTIAL SHIELDING
OF BODY PARTS AS AN IMPORTANT COMPONENT OF RADIOPROTECTANT
POTENTIATION**

M.V. Vasin, I.B. Ushakov

Burnazyan Federal Medical Biophysical Center of FMBA of Russian Federation

Summary. With a certain large radiation load (more than 20 to 50 Gy), primary radiation toxemia predetermines the thanatogenesis of acute radiation sickness, which is clinically presented as a toxemic form. In the form of radiotoxins, a group of high-molecular compounds from of glycoproteins was identified, reproducing experimentally all types and forms of manifestation of acute radiation sickness. There was a twofold increase in the anti-radiation efficacy of indralin in DRF in experiments on dogs when shielding the abdomen, which is tired of "intestinal" toxemia. Decrease of the primary radiation toxemia by shielding of body parts allows to more fully realize the radioprotective properties of radiomodifiers.

Воздействие ионизирующего излучения на организм на основе структурных поражений на клеточном уровне, прежде всего, ДНК (хромосомные аберрации), клеточных мембран, митохондрий и других субструктур вызывает высвобождение из клетки в кровотоку и лимфоциты множество высокомолекулярных соединений различной природы, обладающими антигенными свойствами: будь это высокомолекулярная группа белков, поврежденные ядерные и митохондриальные ДНК, внеклеточный АТФ, окисленные липопротеиды низкой плотности и другие продукты, что приводит к развитию первичного радиационного стресса с активацией свободно-радикальных перекисных процессов и последующей воспалительной реакцией. При определенной большой лучевой нагрузке (более 20 до 50 Гр) первичная радиационная токсемия предопределяет танатогенез острой лучевой болезни, которая клинически представлена в виде токсемической формы. Начиная с ранних работ, шел поиск веществ (радиотоксинов), вызывающих в основном картину радиационной токсемии. К ним относили соединения хиноидной природы, перекисные продукты липидного ряда (работы 60-70 гг. прошлого века А.М. Кузина и Ю.Б. Кудряшова). За последние десятилетия фундаментальные исследования В.М. Малиева выделили на крупных животных группу высокомолекулярных соединений из ряда гликопротеидов в виде радиотоксинов, воспроизводящих экспериментально все виды и формы проявления острой лучевой

болезни, включая токсемическую форму и церебральный синдром в условиях отсутствия воздействия радиации, причем для каждой формы лучевого поражения они органоспецифичны. На основе ранее выполненных работ обращено внимание на высокую противолучевую эффективность экранирования области живота, где вклад защиты кроветворной ткани весьма ограничен, что позволяет сделать вывод о высоком неблагоприятном вкладе «кишечной токсемии» в развитие типичной формы острой лучевой болезни. Значение данного фактора в танатогенезе острой лучевой болезни особенно рельефно проявляется при потенцировании экранированием живота противолучевого эффекта радиопротекторов. При данном способе защиты, прежде всего, снижается проявление первичной лучевой реакции. По результатам изучения противолучевых свойств радиопротектора экстренного действия индралина в опытах на собаках при экранировании области живота и головы ФУД препарата в дозе 10 мг/кг увеличивался с 2 до 5, т.е. в 2,5 раза. Ранее потенцирующий эффект экранирования области живота обнаружен на противолучевые свойства радиопротекторов из ряда аминотиолов и производных серотонина.

Вывод: Частичное снятие первичной радиационной токсемии позволяет в более полной мере реализации противолучевых свойств радиомодификаторов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ РАДИАЦИОННО-ХИМИЧЕСКОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗА

Н.Н. Вейalkina^{1,2}, Е.А. Медведова¹

¹Государственное научное учреждение Институт радиобиологии НАН Беларуси,
Гомель, Беларусь

²Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека», Гомель, Беларусь
e-mail: veyalkina@mail.ru

Резюме. В эксперименте на мышах линии Af отработана экспериментальная модель индуцированного канцерогенеза при сочетании влияния химического канцерогена (раствор уретана) и многократного фракционированного низкодозового ионизирующего излучения. Сочетанное влияние химического и радиационного факторов вызывает 100% образование опухолей в легких мышей уже через 90 суток после воздействия. Предложенная экспериментальная модель может быть использована для исследования противоопухолевых препаратов.

Ключевые слова: опухоли легкого, уретан, ионизирующее излучение, мыши.

EXPERIMENTAL MODEL OF RADIATION-CHEMICAL CARCINOGENESIS

N.N. Veyalkina^{1,2}, E.A. Miadzvedzeva¹

¹State Scientific Institution «Institute of Radiobiology of the National Academy
of Sciences of Belarus», Gomel, Republic of Belarus

²State Institution «Republican scientific and practical center for radiation medicine and
human ecology», Gomel, Republic of Belarus
e-mail: veyalkina@mail.ru

Summary. In an experiment on Af mice, an experimental model of induced carcinogenesis was developed under the combined influence of a chemical carcinogen (urethane solution) and repeated fractionated low-dose ionizing radiation. The combined influence of chemical and radiation factors causes 100% tumor formation in the lungs of mice within 90 days after exposure. The proposed experimental model can be used to study antitumor drugs.

Key words: lung tumors, urethane, ionizing radiation, mice.

Исследования биологических эффектов низкодозового ионизирующего излучения в последнее время приобретают актуальность в связи с широким использованием медицинского оборудования для визуализации и ростом влияния ионизирующего излучения на организм человека. Низкодозовое облучение является причиной в большей степени стохастических эффектов на проявление которых значительно будут влиять другие факторы, такие как генетическая предрасположенность организма к развитию патологии, а также внешние воздействия, например, влияние химических загрязнителей окружающей среды [1].

Линия мышей Af характеризуется тем, что в процессе развития у интактных животных возникают спонтанные опухоли легких и тела, число которых увеличивается под действием мутагенных и канцерогенных факторов [2]. Данная линия мышей успешно используется как для оценки канцерогенного действия факторов различной природы, так и для исследования потенциальных противоопухолевых препаратов [3].

Целью работы была отработка экспериментальной модели канцерогенеза в легких мышей линии Af при сочетании радиационно-химическом воздействии.

Эксперименты проводились на лабораторных мышах линии Af обоего пола в возрасте 3 месяца на момент начала исследования. Животных содержали в условиях стационарного вивария Государственного научного учреждения «Институт радиобиологии НАН Беларуси». Эксперименты выполнялись в соответствии с

международными рекомендациями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях».

Были выделены следующие экспериментальные группы животных: 1 – контроль; 2 – однократное внутривенное введение раствора уретана в дозе 1г/кг; 3 – однократное в/бр. введение раствора уретана 1г/кг и облучение в режиме рентгенографии 1 раз в две недели. Сроки наблюдения составили 3 и 6 месяцев

Мышей подвергали облучению с помощью рентгеновского аппарата биологического назначения X-Rad 320 Precision X-ray Inc (напряжение на трубке 40 кВ, сила тока 3мА). Локальное облучение грудного отдела животного достигалось экранированием при помощи защитных пластин.

Животных выводили из эксперимента через 3 и 9 месяцев пребывания в условиях эксперимента путем декапитации на фоне глубокого эфирного наркоза. Затем проводили забор крови, вскрытие, осмотр, выделение и взвешивание внутренних органов. Легкие животных фиксировали в 10 % формалине и затем изучали при помощи бинокулярного микроскопа (увеличение 8×4). Проводилась оценка частоты появления опухолей (% мышей с аденомами) и количества аденом/мышь.

Для гистологического анализа были приготовлены препараты по общепринятой методике, которые изучали под световым микроскопом.

Доля животных с опухолями в легких в группе контроля через 3 месяца составила 13,5% (95%ДИ 4,54-28,77), а через 6 месяцев 25,7% (95%ДИ 12,49-43,26). У животных с опухолью было отмечено 1 или 2 новообразования в независимости от пола и доли легкого, среднее количество опухолей на мышь составило от 0,61±0,35 до 0,94±0,22 в зависимости от срока наблюдения.

При введении раствора уретана опухоли легких наблюдались у всех без исключения животных уже через 3 месяца. Количество опухолей на мышь составило 12,45±1,49. При дополнительном низкодозовом облучении количество опухолей на мышь значительно возрастало и составило 18,14±1,58.

Через 6 месяцев от начала эксперимента в группе животных, которым был введен раствор уретана возросло количество опухолей в легком до 19,35±1,29, а при дополнительном облучении – 29,23±1,83.

При гистологическом анализе опухоли обнаруженные в легких контрольной группы животных классифицировали как высокодифференцированная аденокарцинома. новообразования имели четкие границы и низкую пролиферативную активность. При введении уретана, и в большей степени при сочетании радиационного и химического факторов отмечен рост не только количества, но и размеров новообразований, а также, повышение митотической активности в клетках опухоли.

Представленная экспериментальная модель может быть использована для изучения влияния низкодозового облучения на химически-индуцированный канцерогенез, а также для разработки и оценки эффективности средств коррекции индуцированного опухолеобразования.

1. The effects of radiation and dose-fractionation on cancer and non-tumor disease development. / W. Liu [et al.] // Int J Environ Res Public Health. – 2012. – Vol. 9(12). – P.4688-4703.

2. Влияние экологических факторов Полесского государственного радиационно-экологического заповедника на спонтанный и химически индуцированный мутагенез и опухолеобразование. / А.Ф. Маленченко, Е.Ф. Конопля, С.Н. Сушко [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2009. – Т. 9, № 3. – С. 317-323.

3. Влияние однократного облучения на образование опухолей в легких мышей линии Af. / Н.И. Тимохина [и др.] // Медико-биологические проблемы жизнедеятельности. – 2020. – №2. – С.59-64.

**РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ ХРОМОСОМНЫХ
АБЕРРАЦИЙ В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ РАБОТНИКОВ ОБЪЕКТОВ
ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ**

*Т.В. Вишнеvская¹, М.Ю. Цыплeнкoвa¹, Д.С. Исубакoвa¹, О.С. Цымбал¹,
И.В. Мильто^{1,2}, Р.М. Тахaуoв^{1,2}*

¹Северский биофизический научный центр
Федерального медико-биологического агентства, Северск, Томская обл., Россия

²Сибирский государственный медицинский университет
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск, Россия
e-mail: vishnevskaya_seversk@mail.ru, mail@sbrc.seversk.ru

Резюме. Проведён сравнительный анализ частоты хромосомных aberrаций (ХА) в лимфоцитах крови работников (n = 13) объектов использования ионизирующего излучения (ОИИИ) с ретроспективной исследования 10 лет. Для оценки частоты ХА образцы крови всех доноров культивировали с последующим приготовлением цитогенетических препаратов. Группу контроля составили работники ОИИИ, которым в 2008 г. был проведён цитогенетический анализ. Группу исследования составили те же работники ОИИИ, которым в 2018 г. повторно было проведено цитогенетическое исследование. При сравнительном ретроспективном анализе частоты цитогенетических нарушений в лимфоцитах крови работников ОИИИ выявлены различия ($p < 0,05$) между изучаемыми группами по частоте хроматидных фрагментов. В группе исследования, по сравнению с группой контроля, выявлено снижение частоты хроматидных фрагментов ($p = 0,0494$). Частоты других изученных типов ХА (хромосомные фрагменты, дицентрические хромосомы и кольцевые хромосомы) не отличались в сравниваемых группах.

Ключевые слова: цитогенетическое исследование, хромосомные aberrации, ионизирующее излучение, ретроспективный анализ.

**RETROSPECTIVE ANALYSIS OF THE FREQUENCY
OF CHROMOSOMAL ABERRATIONS IN BLOOD LYMPHOCYTES
OF WORKERS AT OBJECTS USING IONIZING RADIATION**

*T.V. Vishnevskaya¹, M.Yu. Tsyplenkova¹, D.S. Isubakova¹, O.S. Tsymbal¹,
I.V. Milto^{1,2}, R.M. Takhaouov^{1,2}*

¹Seversk Biophysical Research Center of the Federal Medical-Biological Agency,
Seversk, Tomsk region, Russia

²Siberian State Medical University, Tomsk, Russia
e-mail: vishnevskaya_seversk@mail.ru, mail@sbrc.seversk.ru

Summary. A comparative analysis of the frequency of chromosomal aberrations in blood lymphocytes of workers (n = 13) exposed to initiating radiation was carried out with a retrospective study of 10 years. Blood samples from all donors were cultured, followed by the preparation of cytogenetic preparations to assess the frequency of cytogenetic disorders. The control group consisted of workers who underwent cytogenetic analysis in 2008. The study group consisted of the same workers who underwent cytogenetic testing again in 2018. A comparative retrospective analysis of the frequency of cytogenetic disorders in the blood lymphocytes of workers at the Institute of Refugees revealed differences ($p < 0.05$) between the studied groups in the frequency of chromatid fragments. In the study group, compared to the control group, a decrease in the frequency of chromatid fragments was detected ($p = 0.0494$). Frequencies of other types of chromosomal abnormalities studied (chromosomal fragments, dicentric chromosomes and ring chromosomes) did not differ between the compared groups.

Key words: cytogenetic study, chromosomal aberrations, ionizing radiation, retrospective analysis.

В настоящее время источники ИИ широко используются не только в промышленности, но и в повседневной жизни (в медицине, науке и др.). В ответ на радиационное воздействие в организме человека происходят изменения – нарушение строения и функционирования генома. Радиогенные повреждения ДНК могут привести к гибели клетки, нарушению структуры хромосом, проявляющихся в виде ХА, или иным мутационным событиям, которые впоследствии могут стать причиной развития радиационно-индуцированных заболеваний [1]. Объективным и высокочувствительным методом оценки степени воздействия ИИ на организм человека в раннем и отдалённом периодах, который успешно используется для биологической индикации ИИ, является анализ частоты ХА в лимфоцитах крови. В результате многолетних наблюдений за состоянием генома соматических клеток ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской атомной электростанции, выявлено, что радиационно-индуцированные нарушения могут сохраняться длительное время после облучения, в результате чего установлена возможность ретроспективного использования показателей радиационного мутагенеза [2].

Ретроспективный цитогенетический анализ позволяет верифицировать факт облучения ИИ и определить степень выраженности генетических нарушений при использовании ИИ не только в профессиональной деятельности, но и в медицинских целях [3]. Особое внимание стоит уделить работникам, чья профессиональная деятельность связана с ИИ, для оценки медико-биологических эффектов воздействия ИИ и возможных радиогенных последствий для организма человека.

Целью работы являлось проведение сравнительного ретроспективного анализа результатов цитогенетических исследований лимфоцитов крови работников ОИИИ в 2008 г. и 2018 г.

Материал и методы. В исследование включено 13 условно здоровых работников ОИИИ. Группу контроля ($n = 13$) составили работники ОИИИ, которым в 2008 г. проведен цитогенетический анализ. Группу исследования ($n = 13$) составили те же работники ОИИИ, которым в 2018 г. повторно было проведено цитогенетическое исследование. В исследование включены образцы крови 11 мужчин и 2 женщины, возраст работников ОИИИ, включённых в группу контроля, составил 42-69 лет, возраст работников ОИИИ группы исследования – 52-79 лет.

После культивирования образцов цельной крови всех доноров производили приготовление цитогенетических препаратов для оценки частоты ХА (число проанализированных метафазных пластинок у каждого работника ОИИИ – не менее 300 штук) и статистическую обработку. Анализировали все типы ХА, распознаваемые без кариотипирования. Оценивали цитогенетические нарушения хромосомного типа (парные фрагменты, кольцевые и дицентрические хромосомы), хроматидного типа (одиночные фрагменты), а также количество аберрантных клеток.

Количественно результаты выражали в виде частоты аберрантных клеток и всех типов ХА на 100 проанализированных метафазных пластинок. Статистический анализ полученных данных проводили в программе Statistica 8.0 (StatSoft, США): для каждого типа цитогенетического нарушения вычисляли медиану и квартили, для сравнения количественных показателей между группами был использован непараметрический критерий Манна – Уитни. Статистически значимыми считали значения $p < 0,05$.

Результаты. При сравнительном ретроспективном анализе частоты цитогенетических нарушений в лимфоцитах крови работников ОИИИ выявлены различия ($p < 0,05$) между изучаемыми группами по частоте хроматидных фрагментов. В группе исследования, по сравнению с группой контроля, выявлено снижение частоты хроматидных фрагментов ($p = 0,0494$). Частоты других изученных типов ХА (хромосомные фрагменты, дицентрические хромосомы и кольцевые хромосомы) между сравниваемыми группами не отличаются.

Проведённый ретроспективный цитогенетический анализ позволяет верифицировать факт облучения ИИ, оценить его влияние на организм и определить динамику цитогенетических нарушений. Полученные данные можно использовать для профилактики радиогенных заболеваний персонала ОИИИ и наблюдения за состоянием их здоровья в ходе проведения периодических медицинских осмотров.

1. Гончарова И.А., Фрейдин М.Б., Тахауов Р.М., Карпов А.Б. Молекулярно-генетические подходы, применяемые для оценки воздействия радиации на геном, и индивидуальная радиочувствительность человека // Сибирский медицинский журнал. – 2003. – Т. 18, № 5. – С. 78-83.
2. Алексанин С.С., Слозина Н.М., Неронова Е.Г. Чрезвычайные ситуации и геном человека. – Санкт-Петербург: Политехника-сервис, 2010. – 84 с.
3. Иванова Т.В. Цитогенетические методы исследования: возможности лабораторной диагностики и информативность для врача // Терапевт. – 2020. – № 5. – С. 12-19.

СТОХАСТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ПРОЦЕССОВ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ПЛАТИНЫ В ОПУХОЛЕВЫХ ТКАНЯХ

Д.А. Гиневский, П.В. Изhevский

ГНЦ – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна

ФМБА России, Москва, Россия

e-mail: dgin@oits.ru

Резюме. Исследовали кинетику пространственно-временного распределения атомов платины модифицирующих эффект лучевой терапии. Модель учитывает процессы от внутривенного введения «Цисплатина» до момента выведения его аддуктов из клетки. Показана неоднородность концентрации платины в опухоли. Расчетные оценки хорошо согласуются с данными о концентрации платины в биопсийных пробах при карциноме. Повышение эффективности лучевой терапии возможно при введении «Цисплатина» за 72 часа до начала сеанса.

Ключевые слова: математическое моделирование, химиолучевая терапия, платина, опухоль

STOCHASTIC MODEL OF THE PROCESSES OF THE SPREAD OF PLATINUM IN TUMOR TISSUES

D.A. Ginevsky, P.V. Izhevskij

State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of FMBA of Russia,

Moscow, Russia

e-mail: dgin@oits.ru

Summary. They studied the kinetics of the spatio-temporal distribution of platinum atoms modifying the effect of radiation therapy. The model takes into account the processes from the intravenous administration of “Cisplatin” until the display of its adducts from the cell. The heterogeneity of the concentration of platinum in the tumor is shown. Settlement grades are well consistent with the data on the concentration of platinum in biopsy tests for carcinoma. An increase in the efficiency of radiation therapy is possible when the “Cisplatin” is introduced 72 hours before the start of the session.

Key words: Mathematical Modeling, Chemo-beam Therapy, Platinum, Tumor

Эффективность химиотерапии в сочетании с лучевой терапией, можно существенно увеличить, если использовать в качестве модифицирующего эффекты дозы облучения агента «Цисплатин» или другие препараты платины.

Цель: моделирование пространственно-временного распределения платины в клетках и тканях. Сложность математического моделирования биологических процессов связана с отсутствием возможности точного определения параметров модели. Обычно описание фармакокинетики препаратов ограничено процессами элиминации (выведения) лекарственного препарата из крови. Такой подход не позволяет учесть все аспекты кинетики накопления лекарства в «клетках – мишенях» и оценки периода наибольшей концентрации, а, следовательно, и «пика» эффективности действия лекарства.

Предложено рассмотрение биологической ткани, как сложной активной структуры, что позволяет описать кинетику распределения в ней модифицирующего агента. В модели главные (превалирующие) процессы, влияющие на агент, выделяются из всех возможных процессов, характерных для каждого препарата. Остальные процессы, имеющие влияние на превалирующий процесс, являются сопутствующими. Они либо мало изучены, либо для их полноценного моделирования недостаточно данных. Их взаимодействие представлено при моделировании в виде случайного отклонения параметров, описывающих превалирующие процессы [1]. В докладе представлен пример численной реализации имитационной модели для Цисплатина при лечении карциномы (рак головы и

шей). Полученные усредненные результаты расчета сравниваются с экспериментальными данными описанными Холдингом [2].

Моделирование кинетики распределения препаратов в биологических объектах при помощи случайно-неоднородных сред предпочтительнее используемых в настоящее время моделей, поскольку позволяет прогнозировать время наибольшей концентрации лекарства в нормальных и в опухолевых клетках. Решение подобных задач иными методами чрезвычайно трудоемко и дорогостоящее, либо невозможно, поскольку требует экспериментальной фиксации ряда параметров и установления видов распределений. Предложенная модель позволяет оптимизировать существующие протоколы химиотерапевтического и радиологического лечения. В частности, повышение эффективности лучевой терапии возможно при введении «Дисплатина» за 72 часа до начала сеанса.

**ОЦЕНКА ПРОТИВОЛУЧЕВЫХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА Б-190
ПРИ СОЧЕТАННОМ ПРИМЕНЕНИИ С МОНИЗОЛОМ ПРИ МЕСТНЫХ
ЛУЧЕВЫХ ПОРАЖЕНИЯХ**

В.Д. Гладких, Н.В. Баландин

Федеральное государственное унитарное предприятие Научно-производственный
центр «Фармзащита» Федерального медико-биологического агентства, Химки,
Московская обл., Россия
e-mail: Gladkich 2007@rambler.ru

Аннотация. Обсуждаются полученные в экспериментах на б. крысах данные, характеризующие радиозащитную эффективность препарата Б-190 при сочетанном применении с монизолом при местных лучевых поражениях. Показано что применение монизола после облучения повышало радиозащитный эффект препарата Б-190 как по острым, так по поздним проявлениям местных лучевых поражений.

Ключевые слова: местные лучевые поражения, монизол, препарат Б-190, радиопротекторы, радиозащитная эффективность.

**EVALUATION OF ANTI-RADIATION PROPERTIES OF PREPARAT B-190
WHEN COMBINED WITH MONISOL IN LOCAL RADIATION LESIONS**

V.D. Gladkikh, N.V. Balandin

Federal State Unitary Enterprise Research & Production Center "Pharmaceutical
Protection" of Federal Medical Biological Agency, Khimki, Moscow region, Russia
e-mail: Gladkich2007@rambler.ru

Summary. The data obtained in experiments on b. rats characterizing the radioprotective efficacy of the preparation B-190 when combined with monizole in local radiation lesions are discussed. It is shown that the use of monizole after irradiation increased the radioprotective effect of B-190 both in acute and late manifestations of local radiation lesions.

Key words: Local radiation injuries, monizol, drug (preparation) B-190, radioprotectors, radioprotective efficacy.

Введение. В Российской Федерации на снабжение предприятий атомной энергетики в качестве радиопротектора принят альфа₁-адреномиметик прямого действия *индралин* (препарат Б-190), снижающий тяжесть острой лучевой болезни по показателю ФУД в 1,5 - 2 раза, и местных лучевых поражений в 1,2-1,3 раза. Учитывая то, что радиопротектор Б-190 предназначен для применения практически здоровыми людьми при хорошей его переносимости в рекомендованных дозах, для расширения показаний его клинического применения целесообразным является поиск подходов возможной фармакологической коррекции побочных эффектов радиопротектора, таких как аритмии или резкое повышение артериального давления у людей с повышенной чувствительностью к альфа-агонистам.

С учетом особенностей фармакодинамики, представляет интерес оценка возможности фармакологической коррекции побочных эффектов препарата Б-190 при совместном действии с лекарственными препаратами из группы нитратов, являющихся источником экзогенного NO, который в организме являются естественным регулятором интенсивности секреции и проявления функциональной активности норадреналина и адреналина. Ранее нами в опытах на мелких лабораторных животных было показано, что препарат Б-190 и монизол способны в равной мере вызывать выраженное нарушение местного кровотока в радиочувствительных тканях. При совместном применении препарата Б-190 и монизола каждый из препаратов способен проявлять свои фармакологические свойства на фоне действия другого препарата с проявлением определенной степени ее модуляции. При применении монизола после облучения

противолучевая эффективность препарата Б-190 существенно повышалась по тесту выживаемости животных после смертельных доз облучения ($LD_{95/30}$), при сублетальных дозах - по снижению лучевого поражения системы кроветворения. Монизол, применяемый отдельно сразу после облучения, проявлял слабое противолучевое действие.

Целью настоящего исследования являлась оценка противолучевых свойств препарата Б-190 при сочетанном применении с монизолом при местных лучевых поражениях (МЛП).

Результаты и их обсуждение. Эксперименты проводили на б. крысах – самцах, подвергая их местному облучению в области правой задней лапы на γ -терапевтической установке «Хизотрон» (Чехия) при мощности дозы 104,8-109,9 сГр/мин. Суспензию препарата Б-190 в 0,75% растворе крахмала вводили животным *per os* с помощью зонда в желудок в дозе 400 мг/кг в объеме 1 мл на особь за 15 мин до облучения. Раствор монизола вводили внутривентриально в дозе 100 мг/кг в объеме 1,0 мл сразу после облучения.

МЛП при локальном облучении лапы крыс регистрировали по ранним (лучевой ожог кожи, алопеции, ранние лучевые язвы) и поздним (пострадиационная контрактура, поздние лучевые язвы, отек и ампутации облученной лапы) проявлениям. О противолучевых свойствах препарата Б-190 при ранних и поздних МЛП судили по снижению тяжести МЛП в сравнении с контрольными группами животных, облученных при различных дозах гамма-облучения.

В результате исследования было показано, что при сочетанном применении препарат Б-190 с монизолом в условиях местного гамма-облучения радиозащитный эффект штатного радиопротектора достоверно повышался по критериям снижения тяжести ранних и поздних проявлений МЛП:

- ФУД препарата Б-190 при сочетанном применении с монизолом по критерию снижения острого радиационного дерматита в различные сроки после облучения составил 1,48 (без монизола – 1,2);

- ФУД препарата Б-190 при сочетанном применении с монизолом по критерию выраженности пострадиационной контрактуры в различные сроки после облучения составил 1,4 (без монизола – 1,3);

- ФУД препарата Б-190 при сочетанном применении с монизолом по критерию снижения частоты случаев (%) пострадиационной ампутации стоп облученной конечности крыс в различные сроки после облучения составил 1,5 (без монизола – 1,3).

Монизол, применяемый отдельно, оказывал слабое противолучевое действие.

**FLASH-ОБЛУЧЕНИЕ ПРОТОНАМИ СНИЖАЕТ РАДИАЦИОННОЕ
ПОВРЕЖДЕНИЕ ЭМБРИОНОВ *COTURNIX JAPONICA* В СРАВНЕНИИ
С КОНВЕНЦИОНАЛЬНЫМ РЕЖИМОМ ОБЛУЧЕНИЯ**

С.И. Глухов^{1,2}, И.А. Яковлев^{2,3}, Е.А. Кузнецова¹, В.В. Мартынова², Г.В. Мерзликін²,
Ю.К. Гаврилов², Д.А. Коконцев², С.В. Акулиничев^{2,3}

¹Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

²Институт ядерных исследований РАН, Москва, Троицк

³Российский научный центр хирургии им. Б.В. Петровского, Москва, Троицк
e-mail: serglukhovmb@gmail.com

Резюме. В работе представлены данные о снижении радиационной токсичности, а также оценка экспрессии ряда генов-биодозиметров (CASP3, CDKN1A, COX1 и др.) на модели эмбрионального развития при подведении дозы ионизирующего излучения в режиме FLASH (>40 Гр/с). Облучение эмбрионов проводилось в модифицированном пике Брэгга пучками протонов с энергией 160 МэВ. Биологическая модель - эмбриональное развитие *Coturnix japonica*.

Ключевые слова: ускоренные протоны, модифицированный пик Брэгга, флэш-терапия, эмбриональное развитие амниот, *C.japonica*, микроядра, мРНК.

**FLASH IRRADIATION WITH PROTONS REDUCES RADIATION DAMAGE
IN *COTURNIX JAPONICA* EMBRYOS COMPARED TO CONVENTIONAL
IRRADIATION MODE**

S.I. Glukhov^{1,2}, I.A. Yakovlev^{2,3}, E.A. Kuznetsova¹, V.V. Martynova², G.V. Merzlikin²,
Yu.K. Gavrilov², D.A. Kokontsev², S.V. Akulnichev^{2,3}

¹Institute of Theoretical and Experimental Biophysics RAS, Pushchino, Russia

²Institute for Nuclear Research RAS, Moscow, Troitsk

³B.V. Petrovsky Russian Scientific Center of Surgery, Moscow, Troitsk
e-mail: serglukhovmb@gmail.com

Summary. The work presents data on a decrease in radiation toxicity, as well as an assessment of the expression of a number of genes-biodosimeters (CASP3, CDKN1A, COX1, etc.) on a model of embryonic development while a dose of ionizing radiation was delivered in FLASH mode (>40 Gy/s). Embryos were irradiated in a spread-out Bragg peak with proton beams with an energy of 160 MeV. Biological model - embryonic development of *Coturnix japonica*.

Key words: accelerated protons, spread-out Bragg peak, flash therapy, embryonic development of amniotes, *C.japonica*, micronuclei, mRNA.

Снижение радиационного повреждения облучаемых клеток и тканей живых организмов за счет подведения дозы ионизирующего излучения при разбиении доставленной дозы на 2 фракции [1], разнесенные во времени, равно как и подведение дозы с существенно большей мощностью дозы [2], приводит к снижению радиационных повреждений. Дальнейшие исследования показали, что при подведении дозы с мощностью >40 Гр/с наблюдается существенное снижение радиационной токсичности, что получило в радиобиологии и экспериментальной радиотерапии XXI века название FLASH-эффекта [3].

Ряд работ уже показал, что облучение во FLASH-режиме (>40 Гр/с) снижает пострадиационный фиброз, сохраняет функционирование органов и тканей пищеварительной, барьерной, кроветворной систем организма. Наиболее подтвержденной причиной смягчения радиационного повреждения при FLASH-облучении является мгновенное исчерпание растворенного в тканях кислорода, что может снижать

радиационный и пострадиационной окислительный стресс. Тем не менее, биологические особенности FLASH-эффекта в большей части до сих пор остаются не изученными.

Потенциальное снижение побочного радиационного повреждения нормальных тканей при радиотерапии опухолей за счет FLASH-эффекта является многообещающим развитием радиотерапии.

В настоящем исследовании на модели эмбрионального развития японского перепела (*Coturnix japonica*) проводился анализ влияния режима подведения дозы ускоренными протонами в пике Брэгга: одно- или многоимпульсного (>10) FLASH-режима при сравнении с конвенциональным режимом. Ранее оценка нарушения эмбрионального развития на модели амниот не проводилась. Был проведен анализ выживаемости облученных эмбрионов, частоты успешного завершения эмбрионального развития, общего уровня поведенческой активности методом открытого поля, уровня цитогенетических аномалий в клетках крови (микроядра, дикарионы) на стадии эмбриогенеза и после вылупления. Дозы облучения составили 4 и 8,5 Гр. Также было проведено исследование экспрессии ряда генов, отвечающих за развитие апоптоза, радиационного эффекта свидетеля и функционирования митохондрий, обычно отвечающих на радиационное воздействие при конвенциональном режиме подведения дозы (гены-биодозиметры).

Было обнаружено, что облучение ускоренными протонами в пике Брэгга в режиме FLASH в значительной степени сохраняет нормальное эмбриональное развитие птенцов *C.japonica* в отличие от конвенционального режима подведения дозы.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант № 24-15-00040.

1. Homsey S., Alper T. Unexpected Dose-rate Effect in the Killing of Mice by Radiation // *Nature*, 1966. V.(I.) 210(5032), pp. 212–213. doi: 10.1038/210212a0
2. Field S.B., Bewley D.K. Effects of dose-rate on the radiation response of rat skin // *Int. J. Radiat. Biol.* 1974 V.(I.) 26(3), pp. 259–267. doi: 10.1080/09553007414551221
3. Favaudon V., Caplier L., Monceau V., Pouzoulet F., Sayarath M., Fouillade C., Poupon M.F., Brito I., Hupé P., Bourhis J., Hall J., Fontaine J.J., Vozenin M.C. Ultrahigh dose-rate FLASH irradiation increases the differential response between normal and tumor tissue in mice // *Sci Transl Med.* 2014 V.(I.) 6(245) pp. 245ra93. doi: 10.1126/scitranslmed.3008973

ОСОБЕННОСТИ РАДИОЗАЩИТНОГО ЭФФЕКТА ЭКЗОГЕННОГО ПЕРОКСИРЕДОКСИНА 6 ПРИ ЛЕТАЛЬНОМ ОБЛУЧЕНИИ МЫШЕЙ γ -ИЗЛУЧЕНИЕМ НИЗКОЙ МОЩНОСТИ

Р.Г. Гончаров¹, Е.Е. Карманова¹, В.О. Кобылко², А.Н. Павлов², В.И. Брусков³, В.И. Новоселов¹, М.Г. Шаранов¹

¹ Институт биофизики клетки ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пушкино, Россия

² Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Обнинск, Россия

³ Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия

e-mail: silisti@bk.ru

Резюме. Ранее нами был показан радиозащитный эффект экзогенного пероксиредоксина 6 (Prx6) и его пероксидазно-неактивной мутантной формы (Prx6-C47S) при облучении рентгеновскими лучами с высокой мощностью дозы. В этой работе мы оценили радиозащитный эффект Prx6 и Prx6-C47S при длительном однократном облучении летальной дозой гамма-излучения низкой мощности. При таком пролонгированном сценарии облучения наблюдается увеличение вклада сигнально-регуляторных функций экзогенного Prx6 в радиозащитный эффект.

Ключевые слова: пероксиредоксин 6, низкая мощность дозы, γ -излучение, радиопротектор, выживаемость мышей.

PECULIARITIES OF THE RADIOPROTECTIVE EFFECT OF EXOGENOUS PEROXYREDOXIN 6 DURING LETAL IRRADIATION OF MICE WITH LOW DOSE RATE γ -RADIATION

R.G. Goncharov¹, E.E. Karmanova¹, V.O. Kobylko², A.N. Pavlov², V.I. Bruskov³, V.I. Novoselov¹, M.G. Sharapov¹

¹ Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, FRC PSCBR RAS Pushchino, Russia

² Russian Institute of Radiology and Agroecology of National Research Centre «Kurchatov Institute», Obninsk, Russia

³ Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia

e-mail: silisti@bk.ru

Summary. We have previously shown the radioprotective effect of exogenous peroxiredoxin 6 (Prx6) and its peroxidase-inactive mutant form (Prx6-C47S) upon exposure to high dose rate X-rays. In this work, we evaluated the radioprotective effect of Prx6 and Prx6-C47S upon prolonged single exposure to a lethal dose of low power gamma radiation. In this prolonged exposure scenario, we observed an increased contribution of signaling and regulatory functions of exogenous Prx6 to the radioprotective effect.

Key words: peroxiredoxin 6, low dose rate, γ -radiation, radioprotector, mice survival.

Поиск эффективных и безопасных радиомодулирующих соединений для повышения эффективности и безопасности лучевой терапии остается актуальной проблемой биомедицины. Перспективным кандидатом для решения этой проблемы является пероксиредоксин 6 (Prx6) – представитель семейства тиол-зависимых пероксидаз. Prx6 способен восстанавливать широкий спектр перекисных субстратов, имеет секреторную форму [1], а также способен проникать в клетки благодаря фосфолипазной активности (aiPLA2) [2, 3]. Ранее нами были показаны радиозащитные свойства экзогенного Prx6, а также его мутантной формы Prx6-C47S, лишенной пероксидазной активности при остром летальном рентгеновском облучении с распространенной экспериментальной мощностью дозы 1 Гр/мин [4]. Позже нами было

показано, что Prx6 в крови потенциально может рециркулировать между клеткой и внеклеточным пространством благодаря aiPLA2 [3]. Этот процесс потенциально может модифицировать радиопротекторный эффект Prx6 при более длительном летальном облучении с меньшей мощностью дозы.

Целью данной работы было изучение радиопротекторных свойств экзогенного Prx6 и Prx6-C47S при длительном летальном облучении с низкой мощностью дозы 0,125 Гр/мин.

В работе использовали стандартные тесты на 30-ти суточную выживаемость мышей. Получение генно-инженерных конструкций, выделение, очистка и характеристика Prx6 человека дикого типа [5] и его мутантной формы Prx6-C47S [4] было описано ранее. Самцов аутбредных мышей Kv:SHK в возрасте 6-8 недель разделяли на опытные группы по 10 особей. Раствор Prx6 или Prx6-C47S вводили мышам внутривенно за 15 мин до облучения из расчета 20 мкг/г белка на мышь. Тотальное γ -облучение животных в дозах 7, 9, 10 и 12 Гр проводили при мощности дозы 0,125 Гр/мин в УНУ ГУР-120 ФГБНУ ВНИИРАЭ. Время облучения животных таким образом составило 56, 72, 80 и 96 мин соответственно.

Были получены кривые «доза – эффект» при облучении в дозах 7, 9, 10 и 12 Гр, по которым рассчитаны сублетальная доза ЛД_{50/30} и минимальная абсолютно летальная доза ЛД_{100/30}. Для облученных контрольных животных ЛД_{50/30} = 8 Гр, ЛД_{100/30} = 10 Гр. В случае применения Prx6 ЛД_{50/30} = 11 Гр, ЛД_{100/30} = 12,7 Гр, а для Prx6-C47S ЛД_{50/30} = 9 Гр, ЛД_{100/30} = 12 Гр. Рассчитанный на основании этих данных фактор изменения дозы (ФИД) Prx6 = 1,3, а ФИД Prx6-C47S = 1,16. В предыдущих экспериментах при облучении рентгеновским излучением с мощностью дозы 1 Гр/мин Prx6 обладал большим ФИД, равным 1,4 [4], а ФИД Prx6-C47S был точно таким же [2]. Отметим, что особенность в различии между ЛД_{100/30} Prx6 и Prx6-C47S: в данном случае разница составила всего около 1 Гр, тогда как ранее нами было показано [2], что при облучении рентгеновским излучением 1 Гр/мин это различие превышало 2 Гр. При этом для ЛД_{50/30} разница в 2 Гр осталась неизменной. Наблюдаемое небольшое снижение эффективности Prx6 по отношению к Prx6-C47S предполагает увеличение вклада пероксидазно-независимых радиозащитных свойств белка при увеличении времени воздействия и уменьшении мощности дозы ионизирующего излучения.

Попадая в клетку окисленный экзогенный Prx6 восстанавливается естественным путем и секретируется обратно, имея способность нейтрализовать гидропероксиды как в клетке, так и вне ее. В процессе его транспорта через мембрану Prx6 не только защищает ее от окислителей, но и ремоделирует за счет aiPLA2, связывается с TLR4, регулируя важнейшие транскрипционные факторы, и в дополнение образует Ca²⁺-селективные ионные каналы [3]. Экзогенный Prx6, введенный мышам (20 мкг/г) за 15 до облучения рентгеновским излучением 1 Гр/мин в дозе 1,5 Гр, способен модулировать экспрессию генов ряда ключевых факторов, участвующих в редокс-регуляции, репарации ДНК, регуляции апоптоза, ответе на окислительный стресс, воспалении и регуляции клеточного цикла, таких как NF- κ B, HO-1, SOD1-3, NRF2, PRDX 1-6, XRCC4-5, ATR, IL6 и др. Отметим, что Prx6-C47S в тех же условиях показал промежуточный результат между контрольными и облученными животными, получавшими Prx6 [4]. Подводя итог, Prx6 реализует свои радиозащитные и радиомодулирующие функции различными путями и не все из них связаны с его пероксидазной активностью. С учетом того, что концентрация Prx6 в клетке/ крови и уровень экспрессии гена PRDX6 образует систему регуляции с отрицательной обратной связью [4], а повышенный уровень экспрессии генов PRDX в раковых клетках часто коррелирует с устойчивостью опухолей к ионизирующему излучению [2], то для практического применения, особенно при лучевой терапии, необходимо детальное изучение этих процессов.

В этой работе мы показали, что при увеличении времени воздействия и уменьшении мощности дозы ионизирующего излучения радиопротекторные свойства

Ptx6 лишь незначительно ослабляются, а Ptx6-C47S сохраняет свои радиопротекторные свойства неизменными. Это расширяет возможности для его потенциального применения, которое, однако, затруднено сложностью и неоднозначностью его сигнально-регуляторных функций.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда №24-24-00070.

1. Новоселов В. И. Роль пероксиредоксинов при окислительном стрессе в органах дыхания //Пульмонология. – 2012. – №. 1. – С. 83-87.
2. Sharapov M. G., Novoselov V. I., Gudkov S. V. Radioprotective role of peroxiredoxin 6 //Antioxidants. – 2019. – Т. 8. – №. 1. – С. 15.
3. Sharapov, M. G., Goncharov, R. G., Parfenyuk, S. B., Glushkova, O. V., & Novoselov, V. I. The role of phospholipase activity of peroxiredoxin 6 in its transmembrane transport and protective properties //International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – Т. 23. – №. 23. – С. 15265.
4. Sharapov, M. G., Novoselov, V. I., Fesenko, E. E., Bruskov, V. I., & Gudkov, S. V. The role of peroxiredoxin 6 in neutralization of X-ray mediated oxidative stress: effects on gene expression, preservation of radiosensitive tissues and postradiation survival of animals //Free Radical Research. – 2017. – Т. 51. – №. 2. – С. 148-166.
5. Sharapov M. G., Novoselov V. I., Ravin V. K. Cloning, expression and comparative analysis of peroxiredoxine 6 from different species //Molekuliarnaiia Biologiia. – 2009. – Т. 43. – №. 3. – С. 505-511.

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКИ ДЕЙСТВУЮЩЕГО ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СИГНАЛЫ РАСТЕНИЙ И ИХ РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ УСТОЙЧИВОСТИ К СТРЕСС-ФАКТОРАМ

М.А. Гринберг, Ю.А. Немцова, А.В. Иванова, П.А. Пирогова, В.А. Воденев

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,

Нижний Новгород, Россия

e-mail: mag1355@yandex.ru

Резюме. В экспериментах на растениях показано, что низкоинтенсивное бета-облучение практически не оказывает влияние на морфометрические показатели и активность физиологических процессов в нормальных условиях, однако существенно влияет на формирование адаптации к стрессорам. Одним из механизмов может являться усиление под действием облучения стрессовых электрических сигналов и изменение статуса связанных с ними внутриклеточных сигнально-регуляторных систем, включая pH и концентрацию Ca^{2+} .

Ключевые слова: малые дозы ионизирующего излучения, электрические сигналы растений, фотосинтез, pH, концентрация Ca^{2+} .

INFLUENCE OF CHRONICALLY IONIZING RADIATION ON ELECTRICAL SIGNALS OF PLANTS AND THEIR ROLE IN FORMING RESISTANCE TO STRESS FACTORS

M.A. Grinberg, Yu.A. Nemtsova, A.V. Ivanova, P.A. Pirogova, V.A. Vodenev

Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russia

e-mail: mag1355@yandex.ru

Summary. Experiments on plants have shown that low-intensity beta irradiation has virtually no effect on morphometric parameters and the activity of physiological processes under normal conditions, but significantly affects the formation of adaptation to stressors. One of the mechanisms may be an increase in stress electrical signals under the influence of irradiation and a change in the status of associated intracellular signal-regulatory systems, including pH and Ca^{2+} concentration.

Key words: low doses of ionizing radiation, electrical signals of plants, photosynthesis, pH, Ca^{2+} concentration.

Ионизирующее излучение (ИИ) является постоянно действующим фактором, который непрерывно оказывает влияние на биоту. В ряде условий живые организмы могут подвергаться влиянию повышенного уровня облучения: от загрязнённых радионуклидами территорий до перспективных космических систем жизнеобеспечения. Механизмы влияния ИИ на живые организмы, в том числе растения, является предметом интенсивных исследований. Общепринято, что высокие дозы ИИ подавляют рост и развитие растений, а низкие, напротив, обладают стимулирующим действием или не оказывают выраженного влияния. Результаты отдельных исследований демонстрируют, что эффекты, вызываемые малыми дозами ИИ, могут существенно усиливаться и модифицироваться в условиях комбинированного действия факторов природной среды, включая неблагоприятные погодные условия (гипо- и гипертермия, недостаточная влажность и др.). Механизмы такой модификации на сегодняшний день остаются малоизученными. Известно, что в адаптации растений к стрессорам важную роль играют дистанционные сигналы, обеспечивающие скоординированное изменение активности целого ряда физиологических процессов, направленное на повышение устойчивости. Одним из типов значимых сигналов, возникающих в ответ на быстронарастающие стрессоры, являются электрические сигналы. Сопровождающие их сдвиги концентраций ионов и величины pH являются важнейшим этапом активации соответствующих

внутриклеточных сигнальных систем, которые участвуют в запуске системного ответа растения, вызванного дистанционным сигналом. На сегодняшний день сведения о влиянии хронического ИИ на адаптацию растений к другим стрессовым факторам являются фрагментарными, а исследования роли дистанционных стрессовых сигналов в развитии адаптации в условиях повышенного радиационного фона практически отсутствуют. В мировой литературе имеются только отдельные сведения о влиянии ИИ на некоторые компоненты внутриклеточных сигнальных систем растений: АФК, кальциевой, гормональной. Между тем, имеются основания полагать, что сигнальные системы растений, включая дистанционные стрессовые сигналы, обладают большей радиочувствительностью в сравнении с базовыми физиологическими процессами, и уже в диапазоне малых доз ИИ может иметь место модификация их параметров. Это может повлечь нарушение адаптации растений к изменяющимся условиям среды, развитие которой требует слаженной работы внутриклеточных и межклеточных сигнальных систем.

Целью работы явилось исследование влияния хронически действующего ионизирующего излучения на электрические сигналы растений и их роль в формировании устойчивости к стресс-факторам.

Эксперименты были выполнены на растениях пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и двух линиях трансгенных растений табака (*Nicotiana tabacum* L.), экспрессирующих Ca^{2+} - и pH-чувствительные сенсоры Case12 и Pt-GFP. Облучение производилось на протяжении всего периода выращивания растений (растения пшеницы – 2 недели, растения табака – 6 недель) при помощи Sr90-Y90 β -источника. Мощность дозы составляла около 30 мкГр/час. Кратковременный тепловой стресс задавался нагревом сосуда с растениями в термостате. Засуха моделировалась прекращением полива. Состояние растений оценивалось по активности фотосинтеза и интенсивности транспирации. Показатели световой стадии фотосинтеза регистрировались методом РАМ-флуориметрии, относительная транспирация вычислялась с использованием тепловизионного метода. В качестве участвующих в формировании устойчивости стрессовых сигналов рассматривались электрические сигналы. Параметры электрических сигналов регистрировали при помощи макроэлектродной техники. Участвующие в преобразовании электрического сигнала в функциональный ответ изменения концентрации ионов Ca^{2+} и сдвиги pH регистрировались по флуоресценции генетически кодируемых сенсоров Case12 и Pt-GFP.

Было показано, что ИИ с использованной мощностью дозы практически не оказывает влияния на морфометрические показатели и активность фотосинтеза у растений в отсутствие дополнительных стрессовых факторов. При этом обнаружено, что ИИ существенно модифицирует устойчивость растений как к краткосрочным (тепловой стресс), так и долгосрочным (засуха) неблагоприятным условиям. В основе такого влияния может лежать изменение параметров вызываемых стрессом электрических сигналов. Показано, что у облучённых растений их амплитуда возрастает. Также усиливаются вызываемые электрическими сигналами ответы физиологических процессов – фотосинтеза и транспирации. Ключевым элементом, чувствительным к облучению и участвующим в изменении активности физиологических процессов, способствующей формированию устойчивости, представляются сдвиги pH и концентрации Ca^{2+} .

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект №23-24-00340.

МОДЕЛЬ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ БЛИЖАЙШИХ РЕЗУЛЬТАТОВ ХИМИОЛУЧЕВОГО ЛЕЧЕНИЯ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

*В.Р. Гусарова¹, А.О. Якимова¹, А.В. Салпагарова¹, Б.В. Бойко¹, Л.С. Мкртчян¹,
Л.И. Крикунова¹, И.А. Замулаева^{1,2}*

¹МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России,
Обнинск, Россия

²Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия
e-mail: bingooo444@gmail.com

Резюме. При помощи ПЦР «в реальном времени» разработана модель прогнозирования ближайших результатов химиолучевого лечения больных местнораспространенным раком шейки матки. Предложенная модель основана на клинических показателях заболевания и относительном уровне экспрессии ряда генов, ассоциированных с регуляцией ответа опухоли на облучение и прогрессированием заболевания, до начала лечения. Впервые для подобного исследования был использован минимально инвазивный материал - цервикальные соскобы.

Ключевые слова: рак шейки матки, химиолучевое лечение, прогностическая модель, экспрессия генов, цервикальные соскобы.

MODEL FOR PREDICTING THE IMMEDIATE RESULTS OF CHEMORADIATION THERAPY FOR LOCALLY ADVANCED CERVICAL CANCER

*V.R. Gusarova¹, A.O. Yakimova¹, A.V. Salpagarova¹, B.V. Boyko¹, L.S. Mkrтчian¹,
L.I. Krikunova¹, I.A. Zamulaeva^{1,2}*

¹A.F. Tsyb MRSC – branch of FGBU "NMRC of Radiology", Ministry of Health,
Obninsk, Russia

²Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, Russia
e-mail: bingooo444@gmail.com

Summary. A prognostic model for the immediate results of chemoradiation therapy for locally advanced cervical cancer was developed using real-time PCR. The proposed model is based on clinical parameters of the tumor and relative level of the expression of genes associated with the regulation of the tumor response to radiation and disease progression before treatment. For the first time, minimally invasive material presented by cervical scrapings was used for such study.

Key words: cervical cancer, chemoradiation therapy, prognostic model, gene expression

Разработка моделей прогнозирования эффективности лечения направлена на выяснение ключевых особенностей опухоли, ассоциированных с исходом лечения, как основы для индивидуального подхода к каждому конкретному пациенту. Возможность предсказания исхода лечения позволяет выбрать оптимальный режим терапии с минимальным риском прогрессирования заболевания при наименьших лучевых повреждениях здоровых тканей. На молекулярном уровне такие исследования проводятся при помощи современных методов молекулярной биологии, например, ПЦР «в режиме реального времени», которая обладает рядом преимуществ, таких как относительно небольшая стоимость анализа и возможность внедрения в клиническую практику с сравнительно короткими сроками. Важно отметить, что при этом актуальной задачей выступает использование малоинвазивных методов получения клинического материала.

Одной из наиболее социально значимых нозологий является рак шейки матки (РШМ) ввиду его высоких показателей в структуре онкологической заболеваемости и смертности среди молодых женщин [1], что определяет необходимость дальнейшего совершенствования методов лечения этого заболевания, в том числе за счет

использования персонализированных подходов. Данные литературы о прогнозировании эффективности лечения РШМ на основе молекулярно-биологических особенностей опухоли касаются, в основном, мутационного профиля, в меньшей степени - экспрессии генов и относятся почти исключительно к исследованию биопсийного материала опухолевой ткани, а не малоинвазивных образцов (цервикальных соскобов). В доступной литературе (ведущих мировых базах биомедицинских данных NCBI, ResearchGate, eLIBRARY и др.) нами не обнаружено информации об экспрессии генов в клетках цервикальных соскобов больных РШМ, вероятно, в связи со сложностью пробоподготовки таких образцов. Таким образом, целью представленной работы являлась разработка модели прогнозирования ближайших результатов химиолучевой терапии местнораспространенного РШМ на уровне экспрессии генов в цервикальных соскобах, полученных до начала лечения.

В группу исследования вошли 34 больных местнораспространенными формами РШМ (II-III стадии по FIGO). Химиолучевое лечение больных включало дистанционное облучение на линейном ускорителе электронов в режиме традиционного фракционирования фотонного излучения (6 МэВ) в разовой очаговой дозе (РОД) 2 Гр ежедневно 5 раз в неделю на фоне внутривенных инфузий цисплатина в разовой дозе 40 мг/м² 1 раз в неделю, а также внутривольное облучение источниками высокой активности (Co⁶⁰ или Ir¹⁹²) в РОД 5-7 Гр при ритме 1-2 раза в неделю до СОД от курса сочетанной лучевой терапии на первичный очаг 80,0–85,0 Гр. Для каждого пациента были получены данные о стадии заболевания (FIGO), наличии метастазов в регионарных и отдаленных лимфатических узлах до лечения, а также о степени регрессии опухоли через 3-6 месяцев после его окончания по критериям RECIST 1.1. Цервикальные соскобы были взяты перед началом лечения, их стабилизировали в растворе IntactRNA («Евроген», Россия). Выделение РНК проводили методом фенольной экстракции при помощи реагента ExtactRNA («Евроген», Россия) с авторскими модификациями [2]. Для получения кДНК использовали по 500 нг РНК на каждую реакцию обратной транскрипции с помощью обратной транскриптазы MMLV («Евроген», Россия). ПЦР «в реальном времени» проводили на амплификаторе «CFX96» («Bio-Rad Laboratories», США) с использованием набора реагентов qPCRmix-HS SYBR (Евроген, Россия). Для анализа экспрессии были выбраны гены, ассоциированные с прогрессированием заболевания (*CA9*, *HK2*, *VEGF-A*), регуляцией клеточной гибели (*BAX*, *BCL2*, *CHOP*, *BECLIN1*), стволовых свойств и эпителиально-мезенхимальной транзиции (*CDH1*, *CDH2*, *NANOG*, *OCT4*, *SLUG*, *SNAIL*, *SMAD3*, *SOX2*, *TWIST*, *VIM*), клеточного цикла и репарации повреждений ДНК (*FEN1*, *GADD45*, *KIF14*, *BUB1*, *TTK*, *TP53BP1*, *MCM9*, *POLR2F*, *SIRT6*). В качестве референса на основании оценки стабильности экспрессии пяти генов-кандидатов выбрали сочетание генов *GUSB* и *YWHAZ* при помощи сервиса RefFinder [3]. Для каждого гена были получены значения относительного уровня экспрессии, нормированного на референс в каждом отдельном образце по методу ΔCt . Статистический анализ данных проводили в программе «Statistica 10.0» (Stat Soft, Inc., США).

Множественный регрессионный анализ зависимости эффективности лечения от всех потенциальных предикторов при помощи метода Forward Stepwise позволил построить модель с достаточно высокой статистической значимостью ($R = 0,74$, $p < 0,002$), которая включала 7 независимых параметров, 6 из которых статистически значимо влияли на степень регрессии опухоли, а именно: наличие метастазов в отдаленных лимфатических узлах и относительный уровень экспрессии следующих генов: *SLUG*, *SMAD3*, *FEN1*, *BUB1*, *POLR2F*. При этом за благоприятный исход лечения в ближайшие сроки была принята полная регрессия опухоли, а за неблагоприятный – частичная регрессия или прогрессирование заболевания. Согласно параметрам построенной модели, с благоприятным исходом ассоциировано отсутствие метастазов в отдаленных лимфатических узлах, более высокий относительный уровень экспрессии генов *SMAD3*, *BUB1*, *POLR2F*, и низкий уровень экспрессии генов *SLUG*, *FEN1*. Стоит отметить, что

статистически значимую модель с использованием только клинических показателей заболевания построить не удалось, так как ни один из них не оказывал статистически значимого влияния на исход лечения.

На завершающем этапе работы был выполнен дискриминантный анализ, в результате которого была построена статистически значимая модель ($p < 0,002$) для 6 отобранных программ переменных. Чувствительность Se и специфичность Sp предложенной модели составили 0,86 и 0,96, соответственно, а величина AUC – 0,91, что свидетельствует о высокой эффективности данного метода разделения пациентов на группы по степени регрессии опухоли ещё до начала лечения.

Таким образом, в ходе настоящего исследования удалось разработать модель прогнозирования ближайших результатов химиолучевого лечения местнораспространенного РШМ до начала лечения на основе данных ПЦР – метода, который находит в последнее время всё более широкое применение в клинической практике из-за относительно невысокой стоимости анализа и трудоемкости, а также наличия необходимого оборудования во многих медицинских учреждениях. Большое значение для практического применения имеет и то, что в качестве основного материала для прогнозирования могут быть использованы минимально инвазивные образцы, представленные цервикальными соскобами.

1. Злокачественные новообразования в России в 2021 году (заболеваемость и смертность) / под ред. Каприна А.Д., Старинского В.В., Шахзадовой А.О. – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. 2022. 252 с.
2. Якимова А.О., Гусарова В.Р., Мкртчян Л.С., Замулаева И.А., Шегай П.В., Иванов С.А., Каприн А.Д. Способ выделения и очистки РНК из материала гинекологических соскобов путем фенольной экстракции // Патент RU 2 803 973 C2.
3. Xie F., et al. 2012. miRDeepFinder: a miRNA analysis tool for deep sequencing of plant small RNAs // *Plant Molecular Biology*. 2012. V. 80 (1). P. 75-84.

ДАЗАТИНИБ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ РАДИОСЕНСИБИЛИЗАТОР ОПУХОЛЕВЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК АДЕНОКАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА ЛИНИИ MCF-7

Д.О. Гутникова, В.Г. Шуватова, Д.А. Шапошникова

НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

e-mail: dashonokgutnikova@gmail.com

Резюме. Изучено влияние ингибитора протеинтирозинкиназы дазатиниба на радиочувствительность опухолевых стволовых клеток (ОСК) аденокарциномы молочной железы человека линии MCF-7. Обнаружено, что дазатиниб в субтоксической концентрации повышает чувствительность ОСК к действию γ -излучения. Радиосенсибилизирующий эффект дазатиниба может быть связан с его способностью снижать клоногенную активность клеток маммосфер, характеризующую способность ОСК к самовосстановлению.

Ключевые слова: опухолевые стволовые клетки, аденокарцинома молочной железы человека, MCF-7, дазатиниб, ингибитор протеинтирозинкиназы, γ -излучение, радиосенсибилизаторы.

DASATINIB AS A POTENTIAL RADIOSENSITIZER OF HUMAN BREAST ADENOCARCINOMA MCF-7 CANCER STEM CELLS

D.O. Gutnikova, V.G. Shuvatova, D.A. Shaposhnikova

NRC "Kurchatov Institute", Moscow, Russia

e-mail: dashonokgutnikova@gmail.com

Summary. Effect of a protein tyrosine kinase inhibitor dasatinib on the radiosensitivity of cancer stem cells (CSCs) of human breast adenocarcinoma cell line MCF-7 was studied. It was found that dasatinib at a subtoxic concentration increases the sensitivity of CSCs to γ -irradiation. The radiosensitizing effect of dasatinib may be associated with its ability to reduce the clonogenic activity of mammosphere cells, which characterizes the ability of CSCs to self-renewal.

Key words: cancer stem cells, human breast adenocarcinoma, MCF-7, dasatinib, protein tyrosine kinase inhibitor, γ -radiation, radiosensitizers.

Опухолевые стволовые клетки (ОСК), присутствующие в злокачественных опухолях различных локализаций, имеют ключевое значение в инициации и развитии опухолевого процесса. [1]. Относительно более высокая радиорезистентность ОСК по сравнению с общей массой опухолевых клеток остается одной из важных проблем современной лучевой терапии, поскольку оставшиеся после курса лечения ОСК могут привести к быстрому рецидиву опухоли в первичном очаге и развитию метастазов [2]. Механизмы устойчивости ОСК к действию редкоионизирующего излучения достаточно хорошо изучены, к ним относятся: высокая эффективность репарации радиационных повреждений ДНК, состояние пролиферативного покоя, высокое содержание антиоксидантов [3]. Особое значение имеет радиационно-индуцированная активация антиапоптотических сигнальных путей, в том числе STAT3, Wnt, Notch, Hedgehog, NF- κ B, PI3K/Akt/mTOR, которая может приводить к ускоренной репопуляции ОСК во время или после лучевой терапии [4]. Актуальной задачей является поиск веществ, способных повышать радиочувствительность ОСК. Исходя из вышесказанного, можно предположить, что вещества, способные ингибировать вовлеченные в процессы пролиферации и дифференцировки ОСК сигнальные пути, будут обладать потенциальным радиосенсибилизирующим действием в отношении этой субпопуляции опухолевых клеток. Одним из таких препаратов может быть дазатиниб – препарат из группы ингибиторов протеинтирозинкиназы, используемый для лечения некоторых форм миелодисплазии. Дазатиниб ингибирует ряд протеинкиназ, в том числе обнаружено, что он является ингибитором тирозинкиназного рецептора c-Kit, который в свою очередь

регулирует активность сигнального каскада PI3K [5]. Кроме того, было показано, что он повышает чувствительность ОСК немелкоклеточного рака легкого линии A549 и H460 к действию γ -облучения [6].

Целью работы являлось изучение влияния субтоксической концентрации дазатиниба на радиочувствительность ОСК аденокарциномы молочной железы человека линии MCF-7.

Обогащенную ОСК культуру маммофер получали при культивировании клеток линии MCF-7 в низкоадгезивных условиях в среде DMEM/F12 без фенолового красного, содержащей EGF 20нг/мл, bFGF 10 нг/мл, B27 2%, гепарин 4 мкг/мл, инсулин 10 мкг/мл. Клетки после энзиматической диссоциации маммофер облучали в дозе 2 Гр на установке ГУТ-200М (источник γ -излучения ^{60}Co , мощность дозы 0,35 Гр/мин) в среде без факторов и добавок через 1 час после добавления дазатиниба в концентрации 2,5 мкмоль/л. В образцах с дазатинибом указанная концентрация препарата поддерживалась в течение всего времени культивирования. Радиосенсибилизирующий эффект дазатиниба в отношении клеток маммофер и ОСК в их составе оценивали по количеству клеток и клоногенной активности. Для определения количества ОСК через 5 суток после облучения подсчитывали общее количество клеток в образцах в камере Горяева, определяли долю ОСК путем *sp*-анализа с использованием красителя Хехст 33342 и ингибитора транспортеров ABCG₂ [(3S,6S,12aS)-1,2,3,4,6,7,12,12a-октагидро-9-метокси-6-(2-метилпропил)-1,4-диоксопиразино[1',2':1,6]пиридо[3,4-b]индол-3-пропановой кислоты (1,1-диметилэтилового эфира (Ko143) для верификации области *sr* с помощью проточной цитометрии. На основании полученных данных об общем количестве клеток маммофер и доле ОСК в их составе рассчитывали количество ОСК в образцах. Для оценки клоногенной активности через 7 суток после облучения с помощью световой микроскопии подсчитывали количество маммофер.

Показано, что через 5 сут культивирования цитотоксический эффект дазатиниба в отношении клеток маммофер линии MCF-7 и ОСК был сопоставимым: значение IC₅₀ для клеток маммофер составляло 6,7±0,7 мкмоль/л, а для ОСК – 6,8±1,2 мкмоль/л. При определении влияния дазатиниба на клоногенную активность клеток культуры маммофер, которую можно рассматривать, как вариант количественной оценки содержания ОСК в культуре, были получены близкие результаты: значение IC₅₀ составляло 5,8±1,1 мкмоль/л.

При оценке влияния субтоксической концентрации дазатиниба и γ -облучения по отдельности и совместно на выживаемость ОСК в составе культуры маммофер было обнаружено, что через 5 суток культивирования дазатиниб в концентрации 2,5 мкмоль/л приводил к уменьшению количества ОСК до 89±6%, а облучение – до 60±4% относительно контроля, при этом совместное действие указанных факторов приводило к снижению количества ОСК до 41±3% относительно контроля, которое было статистически значимо ($p < 0,05$) относительно влияния только γ -излучения. Нужно отметить, что через 5 суток после облучения доля ОСК во всех образцах статистически не отличалась от значений в контроле. Вероятно, это связано со способностью выживших клеток восстанавливать относительные размеры субпопуляций до исходного уровня к 5-м суткам культивирования в выбранных условиях.

Исследование радиосенсибилизирующего действия дазатиниба в отношении ОСК по клоногенной активности клеток маммофер показало, что через 7 суток культивирования с дазатинибом в дозе 2,5 мкмоль/л и после облучения в дозе 2 Гр количество маммофер составило 72±6%, 59±4% соответственно, а при совместном действии – 42±3% относительно контроля. Таким образом, добавление препарата до облучения приводило статистически значимому ($p < 0,05$) снижению количества маммофер, образующихся к 7 суткам после облучения, по сравнению с действием повреждающих факторов по отдельности.

Полученные результаты позволяют заключить, что дазатиниб в субтоксичной концентрации повышает чувствительность ОСК к действию γ -излучения. Радиосенсибилизирующее действие препарата может быть связано с его способностью снижать клоногенную активность клеток маммосфер, характеризующую способность ОСК к самовосстановлению.

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

1. Li F., Tiede B., Massagué J. et al. Beyond tumorigenesis: cancer stem cells in metastasis // *Cell Research*. 2007. Vol. 17. P. 3–14.
2. Krause M., Dubrovska A., Linge A. et al. Cancer stem cells: Radioresistance, prediction of radiotherapy outcome and specific targets for combined treatments // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2017. Vol. 109. P. 63–73.
3. Lee S.Y., Jeong E.K., Ju M.K. et al. Induction of metastasis, cancer stem cell phenotype, and oncogenic metabolism in cancer cells by ionizing radiation // *Mol. Cancer*. 2017. V. 16. № 1. P. 10.
4. Krause M., Dubrovska A., Linge A. et al. Cancer stem cells: Radioresistance, prediction of radiotherapy outcome and specific targets for combined treatments // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2017. Vol. 109. P. 63–73.
5. Heo S., Noh E., Kim J. et al. Targeting c-KIT (CD117) by dasatinib and radotinib promotes acute myeloid leukemia cell death. // *Sci Rep*. 2017. 7(1):15278.
6. Gomez-Casal R., Bhattacharya C., Ganesh N., et al. Non-small cell lung cancer cells survived ionizing radiation treatment display cancer stem cell and epithelial-mesenchymal transition phenotypes // *Mol Cancer*. 2013. 12(1):94.

ВЛИЯНИЕ ТИАМИНА НА РАДИОЗАЩИТНУЮ ЭФФЕКТИВНОСТЬ НАФАЗОЛИНА ИЛИ ИНДРАЛИНА В ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА МЫШАХ

О.А. Данилова, Т.В. Шефер

Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины
Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
e-mail: gniivm_2@mail.ru

Резюме. Исследовали влияние тиамин, нафазолин, индралин или их сочетаний на выживаемость мышей после облучения в дозе ЛД_{90-100/30}. Тиамин был неэффективен; в сочетании с нафазолином он снижал, а в сочетании с индралином — повышал радиозащитное действие радиопротектора. Сочетанное введение радиопротекторов обеспечило 100 %-ную выживаемость. Обсуждены гипотезы об участии центральных механизмов в реализации противолучевого действия нафазолина и о ведущей роли канальцевой секреции в элиминации индралина.

Ключевые слова: тиамин, γ -облучение, мыши, профилактика, выживаемость, нафазолин, индралин.

THE EFFECT OF THIAMINE ON THE RADIOPROTECTIVE EFFICACY OF NAPHAZOLINE OR INDRALINE IN EXPERIMENTS ON MICE

O.A. Danilova, T.V. Schäfer

State Scientific Research Test Institute of the Military Medicine of Defense Ministry of the
Russian Federation, Saint-Petersburg, Russia
e-mail: gniivm_2@mail.ru

Summary. The effect of thiamine, naphazoline, indralin or their combinations on the survival of mice after irradiation at a dose of LD_{90-100/30} was studied. Thiamine was ineffective; in combination with naphazoline, it reduced, and in combination with indralin, it increased the radioprotective effect of the radioprotector. The combined administration of radioprotectors ensured 100% survival. Hypotheses about the participation of central mechanisms in the implementation of the anti-radiation effect of naphazoline and the leading role of tubular secretion in the elimination of indralin are discussed.

Key words: thiamine, γ -irradiation, mice, prevention, survival, naphazoline, indralin.

В доступной литературе отсутствуют сведения о влиянии экзогенного тиамин на течение и исход лучевого поражения или модификации радиозащитных свойств других препаратов. В качестве противолучевого средства или компонента радиозащитных рецептур тиамин обладал бы рядом преимуществ: он малотоксичен [1], лекарственные препараты тиамин выпускают в таблетках и в виде раствора для инъекций, известны его антиоксидантные свойства, обеспечивающие целесообразность его применения при экстремальных состояниях.

Целью исследования была оценка влияния тиамин, нафазолин, индралин или их сочетаний на исход острого лучевого поражения у мышей.

Использовали беспородных мышей-самцов массой тела 18—24 г, распределённых случайно в экспериментальные группы по 12 особей в каждой. Мышам вводили нафазолин (внутримышечно, 5 мг/кг), индралин (внутрибрюшинно, 100 мг/кг), тиамин (внутримышечно, 100 мг/кг) или их сочетания за 10—15 мин до общего однократного относительно равномерного γ -облучения в установке ИГУР-1 в дозе ЛД_{90-100/30} (6,5 Гр). Регистрировали сроки гибели животных в течение 30 сут после облучения.

Выживаемость облучённых мышей в группах без введения препаратов и на фоне применения тиамин составила 8,3 %; в группах с профилактическим применением нафазолин или индралин — 75,0 или 66,7 %, их сочетаний с тиамином — 33,3 или

91,7 %, соответственно. В группе с сочетанным применением нафазолина и индралина гибели мышей в период наблюдения не было.

Полученные результаты могут быть объяснены с привлечением гипотезы о наличии у нафазолина первичной фармакологической мишени в центральной нервной системе (ЦНС), влияние на которую интенсифицирует симпатическое воздействие на кровеносные сосуды. В случае справедливости этой гипотезы объяснение эффектов тиамина может заключаться в его синаптолитическом действии, прерывающем воздействие норадреналина на α -адренорецепторы сосудов вследствие реакции тиамина с норадреналином, приводящей к уменьшению концентрации медиатора в синаптической щели и затрудняющей химическую передачу нервного импульса [2] на гладкомышечные клетки сосудистой стенки. Выраженность эффектов индралина, действующего непосредственно на α_1 -адренорецепторы, при сочетании с тиаминном введении не уменьшалась.

На пути нервного импульса, формируемого предполагаемым воздействием нафазолина, от ЦНС к рецепторам сосудов расположена и другая мишень тиамина: в больших дозах он обладает ганглиоблокирующим действием. При устранении передачи импульса в синаптических ганглиях прекращается активация норадреналином рецепторов гладких мышечных волокон стенок кровеносных сосудов, что приводит к вазодилатации и падению артериального давления [3]. В условиях блока ганглионарного проведения импульса радиопротекторы, действующие в ЦНС и вызывающие активацию симпатического влияния на сосуды, должны утрачивать свои противолучевые свойства, что мы наблюдали в экспериментах с сочетанным введением тиамина и нафазолина.

В инструкциях по медицинскому применению нафтизина (действующее вещество — нафазолин), применяемому в качестве сосудосуживающего средства, указано, что он не проникает через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), но это, вероятно, относится к случаям его местного применения в терапевтических дозах. При парентеральном поступлении можно ожидать преодоления гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) нафазолином, молекула которого содержит липофильные участки (нафталиновый цикл) и не содержит сильнополярных участков, препятствующих этому (четвертичный атом азота). Проницаемость нафазолина через ГЭБ определена экспериментально, она близка к проницаемости некоторых веществ, действующих в тканях головного мозга (клонидин, моксонидин, карбамазепин и др.) [4]. Описаны случаи отравлений нафазолином и его немедицинского применения [5], сопровождающиеся проявлениями системного действия: седация, брадикардия, эйфория, развитие аддикции.

Наличие у нафазолина первичной мишени фармакологического действия, опосредующего противолучевое действие, в ЦНС, не противоречит его способности вызывать вазоконстрикцию, действуя непосредственно на рецепторы сосудов: на этом эффекте основано местное применение препаратов нафазолина в качестве антикоагулянта.

Возможно, наличие у нафазолина центрального действия, приводящего к радиозащитным эффектам, было причастно к выявленному синергизму двух радиопротекторов-гипоксантов. Различные пути формирования фармакологического отклика при сочетании применения нафазолина и индралина привели к выживанию всех мышей, облучённых в дозе ЛД₉₀₋₁₀₀.

Повышение тиаминном противолучевой эффективности индралина может быть объяснено с привлечением фармакокинетических сведений. В экспериментах на животных эффективность радиозащитного действия индралина при его парентеральном применении выше по сравнению с внутрижелудочным, что коррелирует с его концентрацией в крови и тканях-мишенях в первые часы после введения. Основной путь элиминации индралина из организма — почечная экскреция: в экспериментах на крысах и собаках показано, что за 6 ч после внутримышечного введения почти всё поступившее количество, а за 24 ч после внутрижелудочного — до 97,5 % препарата выводится с мочой

[6]. Это говорит о том, что концентрация индралина в тканях организма в первые часы после поступления преимущественно зависит от скорости почечной экскреции. Следовательно, воздействие, уменьшающее интенсивность экскреции индралина, способно вызвать замедление падения концентрации в радиочувствительных тканях и, значит, повышение его противолучевой эффективности. Таким воздействием могло быть одновременное введение тиамина, для которого описано конкурентное замедление канальцевой секреции пралидоксима [7], приводящее к более медленному уменьшению концентрации оксима в тканях. При допущении, что канальцевая секреция играет существенную роль в элиминации индралина, повышение радиозащитной эффективности индралина при сочетанном с тиамином применении находит своё объяснение.

Полученные результаты могут быть использованы при дальнейших изысканиях радиопротекторов, исследовании их фармакологических свойств, разработке радиозащитных рецептов.

1. Wrenn, K.D. A toxicity study of parenteral thiamine hydrochloride / K.D. Wrenn, F. Murphy, C.M. Slovis // *Annals of Emergency Medicine*. — 1989. — Vol. 18, N. 8. — P. 867–870.
2. Galzigna, L. The synaptolytic effect of thiamine related to its interaction with neurotransmitters / L. Galzigna // *Biochemical Pharmacology*. — 1969. — Vol. 18, N. 10. — P. 2485–2493.
3. Di Palma, J.R. Neuromuscular and ganglionic blocking action of thiamine and its derivatives / J.R. Di Palma, P. Hitchcock // *Anesthesiology*. — 1958. — Vol. 19, N. 6. — P. 762–769.
4. Use of biopartitioning micellar chromatography and RP-HPLC for the determination of blood-brain barrier penetration of α -adrenergic/imidazoline receptor ligands, and QSPR analysis / J. Vucicevic [и др.] // *SAR and QSAR in environmental research*. — 2017. — Т. 28, N. 3. — С. 235–252.
5. Non-medical Use of Naphazoline (Naphthyzin): Two Case Reports / V.Y. Skryabin [et al.] // *Journal of Addiction Medicine*. — 2020. — Vol. 14, Non-medical Use of Naphazoline (Naphthyzin), N. 5. — P. e267–e270.
6. Ильин, Л.А. Индралин – радиопротектор экстренного действия. Противолучевые свойства: Фармакология, механизм действия, клиника / Л.А. Ильин, Н.М. Рудный, Н.Н. Суворов. — М.: МЗ РФ, 1994. — 435 с.
7. Swartz, R.D. Renal tubular secretion of pralidoxime in man / R.D. Swartz, F.R. Sidell // *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.). — 1974. — Vol. 146, N. 2. — P. 419–424.

ИССЛЕДОВАНИЕ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ХЛОПЧАТНИКА, ВЫЗВАННОЙ ГАММА-ОБЛУЧЕНИЕМ

Э.С. Джафаров¹, А.А. Тагиев², И.Ч. Зейналова², М.З. Велиджанова¹

¹Институт радиационных проблем Министерства науки и образования Азербайджанской Республики, Баку, Азербайджан

²Научно-исследовательский Институт защиты растений и технических растений Министерства сельского хозяйства Азербайджанской Республики, Гянджа, Азербайджан
e-mail: elimkhan.jafarov@gmail.com

Резюме. Учитывая, что γ -облучение успешно применяется для получения мутантных форм разных растений с улучшенными свойствами, в представленной работе мы изучили 3 последовательных поколения районированного сорта хлопчатника. Основная цель работ была получения генотипов растений, устойчивых к различным заболеваниям, стрессовым факторам окружающей среды, таким как повышенная засоленность и засуха.

Результаты показали, что обработка семян хлопчатника перед посевом γ -лучами в дозах 200 - 400 Гр вызывает наследственную изменчивость, что является важным для получения новых сортов растений, отличающиеся от родительских форм комплексом хозяйственно-важных признаков.

Ключевые слова: предпосевное γ -облучение семян хлопчатника, M1, M2, M3 поколения растения, генотипические вариации, полигенные признаки

STUDY OF HEREDITARY VARIABILITY IN COTTON CAUSED BY GAMMA IRRADIATION

E.S. Jafarov¹, A.A. Tagiyev², I.Ch. Zeynalova², M.Z. Velijanova¹

¹Institute of Radiation Problems of the Ministry of Science and Education of the Republic of Azerbaijan, Baku, Azerbaijan

²Scientific Research Institute of Plant Protection and Technical Plants of the Ministry of Agriculture of the Republic of Azerbaijan, Ganja, Azerbaijan
e-mail: elimkhan.jafarov@gmail.com

Summary. Considering that, γ -irradiation is successfully used to obtain mutant forms of various plants with improved properties, in the presented work we studied three successive generations of a zoned cotton variety. The main goal of this work was to obtain plant genotypes resistant to various diseases and environmental stress factors, such as high salinity and drought.

The results showed that treatment of cotton seeds before sowing with γ -rays in doses of 200 - 400 Gy causes hereditary variability, which is important for obtaining new plant varieties that differ from the parent forms in a complex of economically important traits.

Key words: pre-sowing γ -irradiation of cotton seeds, M1, M2, M3 plant generations, genotypic variations, polygenic traits.

Создание новых сортов интенсивного типа и внедрение их в производство считается одним из решающих факторов динамичного развития хлопководства. Понятно, что каждый вновь созданный сорт интенсивного типа должен быть более продуктивным, иметь высокое качество волокна, быть устойчивым к болезням и вредителям. Не секрет, что каждый новый районированный сорт через некоторое время перестает удовлетворять потребности развивающейся отрасли. По этой причине приобретение сортов с высоким потенциалом и отвечающих современным требованиям всегда было в центре внимания селекционеров и генетиков. Экспериментальный (индуцированный) мутагенез при этом, являясь одним из лучших методов для улучшения производственных показателей разных растений, является также одним из наиболее надежных методов сохранения созданных

мутагеном ценных хозяйственных показателей у растений в нескольких последующих поколениях [1].

Метод экспериментального мутагенеза не только ускоряет мутационный процесс, но и изменяет некоторые характеристики растений, в результате чего увеличивается возможность создания новых форм с хозяйственно-ценными признаками. Также увеличивается частота мутаций, формируется широкий спектр изменчивости и в отличие от спонтанной мутации создаются условия для интенсивной селекционной работы.

Относительно недорогой, экологически чистый, высокая степень обезвреживания посадочного материала, отсутствие летального исхода и минимизация повреждения семян при обработке, снижение энергозатрат и др. особенности являлись основной причиной повышенного внимания к технологиям, основанным на использовании радиоактивного излучения для осуществления индуцированной мутации [2-5].

Обработка семян γ -лучами перед посевом может также восстановить и регенерировать изменчивость, которая обычно теряется при адаптации к различным стрессам. При этом семена можно обрабатывать в больших количествах и с ними можно легко обращаться, т.е. хранение и транспортировка также не вызывают трудности [6,7].

В качестве физического мутагена мы использовали радиоактивное излучение, точнее, использовали технологию обработки семян γ -лучами перед посевом. А в качестве материала исследования использовали районированные сорта хлопчатника Гянджа-160, Гянджа-182 и Гянджа-183, которые были получены самоопылением в течение 2 лет. Семена хлопчатника обрабатывали γ -лучами в дозах 5, 10, 50, 100, 200, 300 и 400 Гр с использованием изотопа $Co-60$. В качестве контроля использовали необлученные семена этих сортов. Семена всех трех сортов хлопчатника, как облученных, так и необлученных были высеяны в условиях открытого поля.

В ходе развития за растениями проводили систематические фенологические наблюдения в течение всего вегетационного периода. А в фазах массовой бутонизации, цветения и созревания путем биометрических измерений изучали влияние γ -облучения на рост и развитие растений. В конце вегетации изучали также жизнеспособность растений и в каждом варианте регистрировали измененные растения, отличающиеся от исходных сортов по своим фенотипическим признакам. Определили также образующийся в растениях стерильные, фертильные и т.п. формы растений.

Результаты показали, что обработка семян высокими дозами γ -лучей вызывает ряд генотипических вариаций в количественных признаках растений. При этом полигенные признаки, такие как форма куста, его ветвление, нарезка коробочек, окраска листьев и т. д. изменились и отличались от контрольного варианта. Наблюдались компактная или разбросанная форма куста, более короткий стебель по сравнению с контролем, разветвленная форма с многочисленными боковыми ответвлениями и т. д. В ряде случаев под действием γ -облучения у растений формировались кустистые плодовые ветви в результате фасциации симподиальных ветвей. Иногда на короткой симподиальной ветви таких растений образовались десятки мелких коробочек. Образование таких кластерообразных симподиальных ветвей считаем редкой генетической вариацией.

Гамма-излучение повлияло и на рост растений. Так как из облученных семян сформировались как очень высокорослые, так и низкорослые растения. Карликовые формы наблюдались у сорта хлопчатника Гянджа-182 при облучении семян в дозах 200 Гр и больше. У растений обнаружены даже пары коробочек, что считается редким типом изменчивости. Растения, характеризующиеся этой формой, были обнаружены при обработке семян высокими дозами γ -лучей.

В облученных образцах обнаружены также хозяйственно-ценные (крупнокоробочные, компактнокустарниковые, быстрорастущие) формы растений.

При дозах облучения семян 200 Гр и выше количество измененных растений у всех сортов хлопчатника было больше. Например, для сортов Гянджа-160, Гянджа-182 и Гянджа-183 количество измененных растений при дозе облучения 300 Гр составляло (28,0

+ 4,49), (22,1 + 4,07) и (35,0 + 6,16) % от общего числа, соответственно. А при дозе 400 Гр эти цифры были (41,7+6,36), (32,7+6,50) и (70,0+10,25) %, соответственно.

Сбор хлопка-сырца модифицированных и неизмененных растений в М1 производили в отдельности. Их семена в М1 также собирали в отдельности и высевали всей семьей в М2. В М2 было продолжено изучение морфологических изменений, происходящих у растений под действием мутагена во всех вариантах. Выяснилось, что формы, отобранные по более разнообразным признакам (тип ветвления, размер коробочек, выход и длина волокон, продуктивность, сокращение вегетационного периода, высота и опушенность главного стебля) в этом поколении являются наследственными, в отличие от форм, отобранных в М1. В М2 в разных вариантах также наблюдались однотипные модифицированные растения. Для того, чтобы определить, является ли изменчивость наследственной эти растения также были собраны отдельно по вариантам и изучены в М3. Другими словами, измененные семейства в поколении М2 были отобраны методом селекции и признаны мутантными формами. Далее с целью изучения генетической природы трансформированных семейств семена этих растений были использованы в качестве очередного посадочного материала в поколении М3.

Результаты исследований показали, что увеличение дозы γ -облучения приводит к увеличению как числа мутантных семейств в М2, так и частоты мутаций в М3. В этих вариантах растения имели широкий спектр мутаций. Точнее, были получены кусты с высоким выходом волокна, крупными коробочками и компактной формой. В некоторых вариантах были получены растения с 5-6 и даже 7 хозяйственно важными признаками, такими как крупные коробочки, компактный куст, урожайные, быстрорастущие, с высоким выходом волокна, высокорослые, устойчивые к увяданию и др.

Как известно, ценным исходным материалом при скрещивании считается любая мутантная форма с хозяйственно важными признаками. В связи с этим были изучены и сгруппированы донорские свойства лучших показателей мутантных форм, полученных методом радиационного мутагенеза. Учитывая, что улучшение технологических параметров волокна, таких как линейная плотность, относительная разрывная нагрузка, штапельная длина повышает конкурентоспособность хлопка мы сочли целесообразным изучать также эти показатели.

Подводя итоги наших исследований, можно считать, что воздействие γ -лучей на семена хлопчатника не только создает большее генетическое разнообразие и широкий спектр мутаций, но и приводит к получению экономически ценных мутантных форм для селекции.

1. Kovalev V.N. *Flood. Journal*. 2001, P. 41-42.
2. Javed, M.A., Khatri, A. et al. *Pak. J. Bot.* 2000, V.32, P. 77-83.
3. Momin, K.Ch., Gonge, V.S. et al. *Asian J. Hort.* 2012, V.7, Issue 2, P. 524-527.
4. Chen, Y.F., Chen, W. et al. *Plant Pathol.* 2013, V. 62, P. 112-119.
5. Inthima, P., Otani, M. et al. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 2014, V.119, P. 131-139.
6. Khatab, I.A. and Hegazi, M.A. *International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology*, 2015, V. 2, Issue 10, P. 47-54.
7. El-Khateeb, M. A., Rawia, A. E. et al. *Middle East Journal of Agriculture Research*. 2017, V. 6, Issue 2, P. 282-293.

О РАДИОМИТИГАТОРНЫХ СВОЙСТВАХ АИКАР

*М.В. Душенко*¹, *Д.В. Фомина*^{1,2}, *Н.Ф. Раева*², *С.А. Абдуллаев*^{1,2}

¹Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва, Россия

²ФГБУ ГНЦ Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия
e-mail: saabdullaev@gmail.com

Резюме. Настоящая работа посвящена изучению влияния соединения АИКАР на выживаемость мышей, частоту микроядер в клетках костного мозга мышей и экскрецию внеклеточной ядерной и митохондриальной ДНК с мочой у крыс, подвергнутых воздействию рентгеновского излучения. Показано, что АИКАР действует как радиомитигаторный эффектор и имеет высокий потенциал в качестве радиозащитного средства для активного практического применения.

Ключевые слова: радиация, выживаемость, микроядра, моча, внеклеточная ядерная ДНК, внеклеточная митохондриальная ДНК, АИКАР.

ABOUT THE RADIOMITIGATIVE EFFECTS OF AICAR

*M.V. Dushenko*¹, *D.V. Fomina*^{1,2}, *N.F. Raeva*², *S.A. Abdullaev*^{1,2}

¹Semenov Institute of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

²State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of FMBA, Moscow, Russia
e-mail: saabdullaev@gmail.com

Summary. The present work is devoted to the study of the effect of the AICAR compound on the survival rate of mice, the frequency of micronuclei in mouse bone marrow cells, and the urinary excretion of extracellular nuclear and mitochondrial DNA in rats exposed to X-rays. It has been shown that AICAR acts as a radiomitigative effector and has high potential as a radioprotective agent for active practical application.

Key words: radiation, survival, micronuclei, urine, cell-free nuclear DNA, cell-free mitochondrial DNA, AICAR.

Поиски путей модификации радиочувствительности являются важнейшей фундаментальной проблемой, как с позиции снижения последствий воздействия ионизирующих излучений (ИИ) на организм, так и с позиции повышения эффективности радиотерапии опухолей. Эффективность функционирования репарационных систем зависит не только от их полноценности, но и от количества индуцируемых повреждений ДНК, их сложности, а также энергообеспеченности развития ответа на повреждение ДНК (ОПД) [1]. При этом ключевую роль в поддержании энергетического гомеостаза в облученных малыми и сублетальными дозами ИИ клетках играет 5'-АМФ-активируемая протеинкиназа (АМРК). АМРК является полисубъединичным (гетеротримерным) комплексом – главным регулятором клеточного и системного энергетического гомеостаза. В ряде исследований показано, что дополнительной активации АМРК и митохондриального биогенеза в клетках удается достичь с помощью фармакологических соединений разного класса [2,3]. Среди них значительный интерес представляет 5-аминоимидазол-4-карбоксамид-рибоза (АИКАР), аналог АМФ, который транспортируется в клетки и широко используется в экспериментах. Несмотря на то, что молекулярные механизмы действия АИКАР остаются не до конца изучены, известно, что это соединение обладает противовоспалительными, антиоксидантными и антиканцерогенными свойствами, снижает частоту возникновения онкогенеза у людей [4, 5].

В связи с этим целью нашей работы явилась изучение влияния соединения АИКАР на выживаемость мышей и на частоту образования микроядер (МЯ) в клетках костного мозга, а также на экскрецию внеклеточной ядерной ДНК (вк-ядНК) и внеклеточной митохондриальной ДНК (вк-мтДНК) с мочой крыс, облученных рентгеновскими лучами.

В исследовании использовались самцы мышей линии Balb/c 2-х месячного возраста и самцы крыс линии Fisher-344 3-х месячного возраста, полученных из питомника филиала Института биоорганической химии РАН (Пушино, Московская область). Для определения выживаемости мышей облучение проводили в дозе 8 Гр, а для анализа возникновения МЯ в клетках костного мозга в дозе 2 Гр. Крыс подвергали облучению в дозе 5 Гр. АИКАР (Merck, Darmstadt, Germany) вводили животным внутривенно по 400 мг/кг веса тела. Препарат вводили за 30 мин до и через 20 мин, 6 ч, 24 ч после облучения. Кривые выживаемости были получены для 30 животных на каждую кривую в каждом независимом эксперименте. Статистические различия в экспериментах на выживание между группами мышей сравнивались по методу Каплана-Майера. Различия между данными, полученными до и после обработки крыс, анализировали с помощью теста Манна-Уитни U или непарного t-критерия Стьюдента. Данные представлены в виде средней величины (для 8 животных) и стандартной ошибки среднего значения (\pm SEM). Значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым.

Результаты показали, что АИКАР оказывает радиопротекторное действие, как по выживаемости мышей, так и по снижению частоты микроядер. Показано, что АИКАР оказывает значительный радиозащитный эффект только при его введении мышам сразу после облучения. Результаты анализов указывают, что радиомитигаторный эффект АИКАР на облученных животных, возможно, проявляется посредством митохондриально-направленного механизма. Данные по анализу экскреции вк-яДНК и вк-мтДНК с мочой облученных животных позволяют предполагать, что АИКАР также способствует ускоренному удалению поврежденных клеток и дисфункциональных митохондрий из тканей облученных животных посредством активации аутофагии (митофагии).

Таким образом, результаты наших исследований показывают, что АИКАР действует как радиомитигаторный эффектор и способствует активной экскреции ДНК гибнущих неблагополучных клеток из тканей животных в пострadiационный период. Наблюдаемое увеличение вк-ДНК в моче, возможно, сопряжено элиминацией поврежденных клеток посредством аутофагических механизмов. Повышенный уровень внеклеточной мтДНК (по сравнению с вк-яДНК) в моче облученных крыс явно обусловлен активацией митофагии [6]. АИКАР, возможно, активирует удаление из тканей больше поврежденных клеток, которые могут являться потенциальным для злокачественной трансформации или развития иной патологии.

1. Jackson, S. The DNA-damage response in human biology and disease / S. Jackson, J. Bartek // *Nature*. – 2009. – Vol. 461 (7267). – P. 1071–1078.
2. AMPK activation enhances neutrophil's fungicidal activity in vitro and improves the clinical outcome of *Fusarium solani* keratitis in vivo / W. Si [et al.] // *Curr Eye Res*. – 2022. – Vol. 47 (8). – P. 1131–1143.
3. AMP-activated protein kinase activation in skeletal muscle modulates exercise-induced uncoupled protein 1 expression in brown adipocyte in mouse model / H.J. Kim [et al.] // *J Physiol*. – 2022. – Vol. 600 (10). – P. 2359–2376.
4. AICAR attenuates postoperative abdominal adhesion formation by inhibiting oxidative stress and promoting mesothelial cell repair / Y. Wu [et al.] // *PLoS One*. – 2022. – Vol. 17(9). – e0272928.
5. Anti-cancer effects of 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1- β -d-ribofuranoside (AICAR) on triple-negative breast cancer (TNBC) cells: mitochondrial modulation as an underlying mechanism / V. Tripathi, [et al.] // *Curr Cancer Drug Targets*. – 2022. – Vol. 22 (3). – P. 245–256.
6. Mitophagy in depression: Pathophysiology and treatment targets / A. Tripathi [et al.] // *Mitochondrion*. – 2021. – Vol. 61. – P. 1–10.

МЕХАНИЗМЫ ПОВЫШЕННОЙ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

I.A. Zamulaeva^{1,2}

¹МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России,
Обнинск, Россия

²Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия
e-mail: zamulaeva@mail.ru

Резюме. В докладе представлен обзор данных литературы и результатов собственных исследований, посвященных выяснению молекулярно-клеточных механизмов влияния вирусов папилломы человека (ВПЧ) на реализацию 6R радиобиологии как основных факторов, обеспечивающих более высокую чувствительность ВПЧ-положительных злокачественных новообразований (ЗНО) к традиционным методам лучевой терапии по сравнению с ВПЧ-негативными опухолями.

Ключевые слова: ВПЧ, 6R радиобиологии, радиочувствительность, лучевая терапия

MECHANISMS FOR INCREASED RADIOSENSITIVITY OF PAPILLOMA VIRUS ASSOCIATED CANCERS

I.A. Zamulaeva^{1,2}

¹ A. Tsyb Medical Radiological Research Center – Branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

² Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, Russia
e-mail: zamulaeva@mail.ru

Summary. The report presents literature data and results of our own studies devoted to elucidating molecular and cellular mechanisms for influence of human papillomaviruses (HPV) on the implementation of 6R radiobiology as the main factors ensuring a higher sensitivity of HPV-positive cancers to traditional methods of radiation therapy compared to HPV-negative ones.

Key words: HPV, 6Rs of radiobiology, radiosensitivity, radiation therapy

ВПЧ высокого канцерогенного риска обнаруживаются в ЗНО различных локализаций. Так, при раке шейки матки (РШМ) и орофарингеальном раке (ОФР) ВПЧ 16,18 и других типов обнаруживаются в 85-98% и 25-30% случаев, соответственно. При раке толстой, прямой кишки и анального канала доля ВПЧ положительных случаев составляет от 15 до 60% в зависимости от метода исследования и анатомической области. Принято считать, ВПЧ-инфекция не только является важным этиологическим фактором возникновения ЗНО указанных локализаций, но и способна влиять на чувствительность к противоопухолевой терапии. Как хорошо известно для РШМ и ОФР, ВПЧ-положительные ЗНО демонстрируют более высокую чувствительность к лучевой терапии (ЛТ) с использованием редкоионизирующих излучений по сравнению с таковой ВПЧ-негативных опухолей. Более того, для ОФР получены убедительные доказательства клинической полезности выявления ВПЧ-положительных случаев с целью выбора оптимальной схемы лечения, включая возможную деэскалацию доз ЛТ. В целом, изучение радиочувствительности ЗНО в зависимости от ВПЧ-статуса является важным направлением совершенствования ЛТ в плане разработки персонализированных методов лечения, а выяснение механизмов влияния ВПЧ на радиочувствительность – одной из ключевых проблем радиационной онкологии в плане поиска и рационального использования новых подходов к лечению.

Многолетние исследования молекулярно-клеточных механизмов влияния ВПЧ на радиочувствительность свидетельствуют о плейотропном действии ВПЧ на процессы,

определяющие ответ клеток/тканей на фракционированное облучение и, в конечном итоге, влияющие на эффективность ЛТ. Эти процессы (или факторы) были впервые обобщены в работе Withers, 1975, в форме т.н. 4R радиобиологии [1]:

- repair (репарация сублетальных повреждений ДНК);
- reoxygenation (реоксигенация опухоли);
- redistribution (перераспределение по фазам клеточного цикла);
- regeneration (репопуляция выживших клеток между фракциями дозы).

В 1989 году к числу таких факторов была отнесена внутренняя радиочувствительность (radiosensitivity), таким образом, общее число факторов было увеличено до 5 R [2]. А в 2019 году группа французских ученых предложила считать реактивацию (reactivation) противоопухолевого иммунного ответа шестым фактором R, влияющим на эффективность ЛТ [3].

Действительно, многочисленные исследования доказывают, что вирусные белки E6/E7 подавляют гомологичную репарацию двунитевых разрывов ДНК в результате взаимодействия с разнообразными сенсорными, трансдукторными и эффекторными белками, которые участвуют в репарации. При этом некоторые авторы обнаружили «компенсаторное» переключение опухолевых клеток на другой путь репарации - негомологичное соединение концов, которое в принципе не позволяет восстановить ДНК без ошибок. В конечном итоге эффективность репарации снижается, а радиочувствительность ВПЧ- позитивных клеток увеличивается.

Со времени первых радиобиологических экспериментов в начале прошлого века кислород известен как один из самых мощных модификаторов радиочувствительности, при этом неоднократно было показано, что гипоксические клетки в 2–3 раза более устойчивы к действию редкоизионизирующих излучений. Основной причиной развития гипоксии в ЗНО является их неуправляемый рост, вследствие чего масса опухолевых клеток растет быстрее питающей их сосудистой сети. Имеются данные, что хотя ВПЧ-позитивные опухоли характеризуются достаточно высокой пролиферативной активностью, они в целом лучше оксигенированы по ряду причин, включая высокую плотность сосудистой сети и повышенное содержание VEGF. Не менее важно, что E6 снижает антиоксидантную активность клеток, а E7 ингибирует глутатионтрансферазу, в результате чего снижается перхват свободных радикалов и ВПЧ⁺ опухоль ставится более чувствительной к действию редкоизионизирующих излучений.

Следующим фактором, влияющим на эффективность фракционированного воздействия редкоизионизирующего излучения в ходе традиционной ЛТ, является перераспределение клеток по фазам цикла. Если фракция пролиферирующих клеток составляет значительную часть опухоли, эффект перераспределения опухолевых клеток по фазам цикла заметно повышает эффективность ЛТ. Многими авторами было показано, что пролиферативная активность и радиационная задержка клеток в контрольных точках клеточного цикла зависят от ВПЧ-статуса. В частности, установлено, что вирусные белки E6 и E7 взаимодействуют с клеточными белками - регуляторами клеточного цикла p53 и pRb, инактивируя их. В итоге может происходить повышение пролиферации ВПЧ-позитивных клеток. Например, по нашим данным средняя доля клеток суммарно в фазах S+G2+M была в 1,4 раза выше в ВПЧ-позитивных опухолях орофарингеальной зоны до лечения, чем в ВПЧ-негативных: 22,5±1,8% vs 16,3±4,0%, соответственно. Различия в регуляции клеточного цикла в ВПЧ⁺ и ВПЧ⁻ клетках становятся ещё более заметными после облучения. E7 разрушает клеточный белок Rb, который играет ключевую роль в отрицательном контроле клеточного цикла. Разрушение pRb приводит к тому, что облученные клетки быстро проходят контрольную точку G1/S, быстрее проходят S-фазу и накапливаются в радиочувствительных фазах G2+M. И эта задержка продолжается дольше в ВПЧ⁺, чем в ВПЧ⁻ клетках, что неоднократно доказано экспериментально. Таким образом, к следующему сеансу облучения радиочувствительность ВПЧ-позитивных клеток оказывается выше, чем таковая ВПЧ-негативных.

Репопуляция опухолевых клеток после облучения – ещё один мощный фактор, определяющий эффективность фракционированного облучения. Именно репопуляция опухолевых клеток считается непосредственной причиной неудачного лечения ЗНО. Биологическую основу репопуляции составляет пролиферация клеток, выживших после облучения и сохранивших клоногенную активность. В соответствии с современными представлениями о иерархическом строении ЗНО, таковыми являются опухолевые стволовые клетки (ОСК), которые обладают более высокой резистентностью к действию редконионизирующего излучения, чем остальные клетки. Данные литературы и результаты собственных исследований позволяют полагать, что существует взаимосвязь между ВПЧ и формированием пула ОСК и/или ответом ОСК на противоопухолевые воздействия *in vitro*. Так, в нашем исследовании ОФР было установлено 2-кратное снижение доли ОСК в ВПЧ⁺ опухолях по сравнению с ВПЧ⁻.

Внутренняя (исходная) радиочувствительность широкого спектра стабильных линий плоскоклеточного рака головы и шеи исследовалась во многих лабораториях мира с учетом ВПЧ-статуса. С помощью классического теста на образование колоний определяли размер фракции выживших клеток после воздействия γ - или рентгеновского излучения в дозе 2Гр (SF2) в нормоксических условиях *in vitro*. Были получены согласующиеся данные о более высокой радиочувствительности ВПЧ-положительных клеток по сравнению с ВПЧ-негативными, что авторы связывают с более высоким уровнем апоптоза, нарушением контроля клеточного цикла и большим количеством остаточных двуниевых разрывов ДНК.

В заключение следует отметить, что влияние ВПЧ на радиационную реактивацию противоопухолевого иммунного ответа остается практически неизученным. Учитывая известную взаимосвязь эффективности иммунотерапии онкологических больных с ВПЧ-статусом, можно предположить, что ВПЧ способен оказывать значительное влияние на состояние противоопухолевого иммунитета также и в облученных ЗНО.

Таким образом, ВПЧ оказывают существенное влияние практически на все известные процессы, определяющие эффективность ЛТ (воздействуют, по крайней мере, на 5R из 6). По сравнению с ВПЧ-негативными опухолями, ВПЧ-положительные демонстрируют более высокую чувствительность к редконионизирующему излучению вследствие снижения эффективности гомологичной репарации поврежденных ДНК (R1), более высокой оксигенации и подавления антиоксидантной защиты (R2), нарушений контроля клеточного цикла (R3), особенностей регуляции пула ОСК, обеспечивающих пострадиационную репопуляцию (R4), более высокой внутренней радиочувствительности (R5). Можно полагать, что использование плотноконионизирующих излучений оправдано, прежде всего, при лечении ВПЧ-негативных ЗНО, а стратификация больных по ВПЧ-статусу до лечения необходима для рационального использования дорогостоящих облучательских установок.

1. Withers H.R. *Advances in Radiation Biology*, 1975, V. 5, P. 241-247.
2. Steel G.G., McMillan T.J., Peacock J.H. *Int J Radiat Biol*, 1989, V.56, P. 1045-1048.
3. Boustani J., Grapin M., Laurent P.A., Apetoh L., Mirjoleto C. *Cancers (Basel)*, 2019, V. 11: 860.

БЕЛОК ТИХОХОДОК DSUP (DAMAGE SUPPRESSOR): ЕСТЕСТВЕННЫЙ МЕХАНИЗМ РАДИОПРОТЕКЦИИ

М.П. Зарубин¹, Е.В. Кравченко¹, Т.Н. Муругова¹, О.И. Иваньков¹, Ю.Е. Горшкова¹,
Е.В. Андреев¹, А.Н. Нечаев¹, П.Ю. Апель¹

¹Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия
e-mail: mzarubin@jinr.ru

Резюме. Молекулярные механизмы радиорезистентности экстремофильных организмов могут служить основой для новых прикладных разработок в медицине и биотехнологии. Уникальный неупорядоченный белок тихоходок Dsup эффективно защищает ДНК от повреждения активными формами кислорода, что подтверждено на культуре клеток человека и сложном модельном организме *Drosophila melanogaster*, экспрессирующих Dsup. На транскриптомном уровне показано влияние присутствия белка Dsup на многие процессы в клетке. В данный момент исследуются структура белка и комплекса Dsup-ДНК, разрабатываются гибридные фильтрующие биоматериалы на основе Dsup.

Ключевые слова: естественная радиорезистентность, экстремофилы, уникальные неупорядоченные белки тихоходок, ДНК-протекторный белок Dsup.

TARDIGRADE DSUP PROTEIN (DAMAGE SUPPRESSOR): NATURAL MECHANISM OF RADIOPROTECTION

М.П. Зарубин¹, Е.В. Кравченко¹, Т.Н. Муругова¹, О.И. Иваньков¹, Ю.Е. Горшкова¹,
Е.В. Андреев¹, А.Н. Нечаев¹, П.Ю. Апель¹

¹ Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, Russia
e-mail: mzarubin@jinr.ru

Summary. Molecular mechanisms of radioresistance in extremophiles can serve as the basis for new applied solutions in medicine and biotechnology. The unique tardigrade disordered Dsup protein effectively protects DNA from damage by reactive oxygen species, which has been confirmed in human cell culture and the complex model organism *Drosophila melanogaster* expressing Dsup. At the transcriptomic level, the influence of Dsup protein on many processes in the fruit fly's organism has been demonstrated. Currently, the structure of the protein and Dsup-DNA complex is being investigated, and hybrid filtering biomaterials based on Dsup are being developed.

Key words: natural radioresistance, extremophiles, unique tardigrade disordered proteins, DNA-protective Dsup protein.

Исследования молекулярных механизмов радиорезистентности экстремофильных организмов стали возможными благодаря развитию омиксных технологий. Полученные данные позволили обнаружить новые белки перспективные для создания новых радиопротекторов, радиорезистентных клеточных культур, штаммов микроорганизмов и сельскохозяйственных растений. Для одного из самых радиорезистентных видов животных на Земле - тихоходки *Ramazzottius varieornatus* (LD₅₀ > 5000 Гр), была обнаружена ключевая роль уникальных неупорядоченных белков в ответе на многие виды стрессов и обратимом переходе в состояние криптиобиоза. Полногеномное секвенирование *R. varieornatus* позволило обнаружить уникальный белок Dsup (Damage suppressor), выполняющий ДНК-протекторную роль, однако механизм его действия оставался недостаточно изученным [1]. В СМГК ЛЯП ОИЯИ проводятся исследования механизма действия белка Dsup и его практического применения, были получены культуры клеток человека и сложный модельный организм *Drosophila melanogaster*, экспрессирующие Dsup, для которых было продемонстрировано повышение устойчивости к ионизирующему излучению и окислительному стрессу. Для

D.melanogaster, экспрессирующих *Dsup*, был проведен анализ транскриптома и впервые установлено влияние белка на экспрессию многих генов [2]. Исследование молекулярной структуры белка показало, что *Dsup* является неупорядоченным белком, образующим высоко-динамический комплекс с ДНК. Также показано, что *Dsup* обладает высокой устойчивостью к радиационной деградации [3]. Основываясь на полученных данных, был разработан новый композитный биоматериал - трековые мембраны, модифицированные белком *Dsup*, предназначенные для селективного выделения внеклеточной ДНК из растворов [4].

1. Hashimoto T. et al. Extremotolerant tardigrade genome and improved radiotolerance of human cultured cells by tardigrade-unique protein //Nature communications. – 2016. – Т. 7. – №. 1. – С. 12808.
2. Zarubin M. et al. The tardigrade *Dsup* protein enhances radioresistance in *Drosophila melanogaster* and acts as an unspecific repressor of transcription //iScience. – 2023. – Т. 26. – №. 7.
3. Zarubin M. P. et al. Radioprotective protein of tardigrades *Dsup* (damage suppressor) is resistant to high doses of ionizing radiation //Moscow University Physics Bulletin. – 2024. – Т. 79. – №. 1. – С. 91-96.
4. Zarubin M. et al. Developing tardigrade-inspired material: Track membranes functionalized with *Dsup* protein for cell-free DNA isolation //Biotechnology Progress. – 2024. – С. e3478.

**СВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМНОЙ
ТРАНСФОРМАЦИИ С ПОВЫШЕННОЙ ЧАСТОТОЙ
ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ**

*Д.С. Иsubakova¹, О.С. Цымбал¹, Т.В. Вишнеvская¹, М.Ю. Цыплenkova¹,
А.В. Kирейkova¹, Н.В. Литвяков^{1,2}, И.В. Мильто^{1,3}, Р.М. Тахауов^{1,3}*

¹Северский биофизический научный центр

Федерального медико-биологического агентства, Северск, Томская обл., Россия

²Томский национальный исследовательский медицинский центр

Российской академии наук, Томск, Россия

³Сибирский государственный медицинский университет

Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск, Россия

e-mail: isubakova.daria@yandex.ru, mail@sbrc.seversk.ru

Резюме. Проведена оценка связи однонуклеотидных полиморфизмов генов эпителиально-мезенхимной трансформации с повышенной частотой цитогенетических нарушений в лимфоцитах крови работников объекта использования ионизирующего излучения, подвергавшихся длительному профессиональному техногенному облучению ионизирующим излучением в дозах 100-500 мЗв. Установлена ассоциация 8 однонуклеотидных полиморфизмов генов эпителиально-мезенхимной трансформации с повышенной частотой дигцентрических и кольцевых хромосом в лимфоцитах крови работников объекта использования ионизирующего излучения. В отношении остальных изученных типов цитогенетических нарушений статистически значимых отличий не установлено.

Ключевые слова: ионизирующее излучение, хромосомные aberrации, однонуклеотидные полиморфизмы.

**THE RELATIONSHIP OF POLYMORPHISMS OF EPITHELIAL-MESENCHYMAL
TRANSFORMATION GENES WITH AN INCREASED FREQUENCY
OF CYTOGENETIC DISORDERS WHEN EXPOSED
TO OCCUPATIONAL IONIZING RADIATION**

*D.S. Isubakova¹, O.S. Tsymbal¹, T.V. Vishnevskaya¹, M.Yu. Tsyplenkova¹,
A.V. Kireikova¹, N.V. Litviakov^{1,2}, I.V. Milto^{1,3}, R.M. Takhauov^{1,3}*

¹Seversk Biophysical Research Center of the Federal Medical-Biological Agency,
Seversk, Tomsk region, Russia

²Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences,
Tomsk, Russia

³Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

e-mail: isubakova.daria@yandex.ru, mail@sbrc.seversk.ru

Summary. The results of studying the relationship of single-nucleotide polymorphisms of genes of epigenetic regulation of the genome with an increased frequency of cytogenetic disorders in the blood lymphocytes of workers of the ionizing radiation facility exposed to prolonged radiation exposure at doses of 100-500 mSv. An association of 8 single nucleotide polymorphisms of epithelial-mesenchymal transformation genes with an increased frequency of dicentric and ring chromosomes in the blood lymphocytes of workers at an ionizing radiation facility was established. All other types of cytogenetic disorders showed no statistical significance.

Key words: ionizing radiation, chromosomal aberrations, single nucleotide polymorphism.

Эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) – сложный процесс изменения эпителиальными клетками молекулярного и структурно-функционального фенотипа на мезенхимный, происходящий в ходе эмбрионального развития, заживления ран, а также при патологических процессах – например, при фиброзе, онкогенезе и др. [1]. Молекулярные механизмы, лежащие в основе ЭМП, недостаточно изучены [2]. Доказана связь ЭМП с другими функциями клетки, включая стволовость, устойчивость к апоптозу, нестабильность генома, лекарственную устойчивость и метаболическую адаптацию [3]. Антропогенное воздействие ионизирующего излучения (ИИ) ведёт к повреждению ДНК и к ухудшению состояния здоровья населения. Баланс между механизмами повреждения и репарации ДНК определяют жизнеспособность клеток после воздействия ИИ [4]. Так, радиочувствительность опухолевых клеток сильно зависит от способности клеток восстанавливать двухцепочечные разрывы ДНК [5]. Одним из факторов, способных влиять на радиорезистентность опухолевой клетки, является ЭМП. Например, в исследовании Stark T.W. et al. показано снижение экспрессии белка E-кадгерина, характерного для эпителиальных клеток, в сочетании с увеличением N-кадгерина, характерного для клеток соединительной ткани, в образцах тканей рака поджелудочной железы после воздействия ИИ, по сравнению с тканями до радиационного воздействия [6].

Связь ЭМП и радиорезистентности убедительно свидетельствует о том, что индукция ЭМП является частью адаптивного ответа на воздействие ИИ. ЭМП, соответственно, является путём, лежащим в основе радиоадаптивного ответа.

Цель работы заключается в оценке связи однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) генов ЭМП с повышенной частотой хромосомных aberrаций (ХА) в лимфоцитах крови работников объекта использования ИИ (ОИИИ) под действием длительного профессионального облучения ИИ в диапазоне доз 100-500 мЗв.

Материал и методы. Основным источником биологического материала (цельная венозная кровь) и сопутствующей информации о нём для формирования группы исследования являются банк биологического материала (ББМ) Северского биофизического научного центра (СБН Центр), единая электронная база данных ББМ и региональный медико-дозиметрический регистр населения ЗАТО Северск и персонала ОИИИ. Для изучения была подобрана группа из 95 работников ОИИИ. Критерии включения в исследование: мужской пол, славянская национальность, возраст 45-70 лет, хроническое внешнее облучение (γ -излучение) в диапазоне доз 100-500 мЗв, отсутствие в анамнезе злокачественных новообразований и инфаркта миокарда. Выбор генов выполняли в результате широкогеномного исследования с помощью ДНК-чипов высокой плотности CytoScan™ HD Array (Affymetrix, США) [7]. Для всех обследованных работников проводили стандартный цитогенетический анализ лимфоцитов крови. Определяли следующие виды ХА: aberrантные клетки, мультиaberrантные клетки (более пяти ХА в одной клетке), полиплоидные клетки, хроматидные и хромосомные фрагменты, кольцевые и дицентрические хромосомы, хроматидные обмены, транслокации. Анализ проводили с помощью программы Statistica 13.5.0.17 (StatSoft, США). Соответствие распределения генотипов в выборке равновесию Харди – Вайнберга оценивали с помощью калькулятора Court lab HW calculator. Ассоциацию уровня ХА с ОНП оценивали по лог-линейной регрессии для всех четырёх генотипических моделей (аддитивной, доминантной, рецессивной, сверхдоминантной) на каждый из исследуемых ОНП. Рецессивная генотипическая модель была выбрана согласно информационному критерию Акаике. Для оценки статистической значимости различий между выборками применяли непараметрический критерий Манна – Уитни. Статистически значимыми различия считали при $p < 0,05$.

Результаты. На основании проведённого анализа выбрано 362 ОНП 20 генов ЭМП (*ZEB1, ZEB2, SNAI1, SNAI2, TCF4, TCF3, FOXA2, FOXA3, FOXO6, FOXO1, FOXO3, FOXO4, TWIST, TBXT, FGFR1, OCLN, CDH1, TGFA, TGFB2, EGF*). Затем с помощью

статистических методов проанализирована взаимосвязь ОНП генов ЭМП с повышенной частотой и типом цитогенетических нарушений у 95 работников ОИИИ, имеющих дозу внешнего облучения. Согласно процедуре были исключены из анализа ОНП любого генотипа при $p < 5$, поскольку в условиях малочисленной выборки это увеличивает вероятность ошибки первого рода, и ОНП, не соответствующие равновесию Харди – Вайнберга. В итоге осталось 102 ОНП, для которых были просчитаны уровни значимости с частотой и спектром ХА. Ассоциация с повышенной частотой дицентрических и кольцевых хромосом установлена для 8 ОНП. Все остальные изученные типы ХА не показали статистической значимости.

Таким образом, с помощью широкогеномных исследований с использованием микроматриц CytoScan™ HD Array (Affymetrix, США), содержащих 750 000 ОНП 12 000 генов, у 95 работников ОИИИ, подвергавшихся длительному техногенному низкоинтенсивному радиационному воздействию в диапазоне доз 100-500 мЗв, выявлено 8 ОНП (rs3849385, rs9549241, rs11865026, rs2059254, rs9925923, rs1862748, rs682245, rs6020178), ассоциированных с повышенной частотой кольцевых и дицентрических хромосом в лимфоцитах крови.

Для подтверждения выявленных ассоциаций необходимы дальнейшие валидационные исследования на расширенной выборке людей, подвергавшихся долговременному техногенному профессиональному облучению ИИ.

1. Debnath P., Huirem R.S., Dutta P., Palchadhuri S. Epithelial-factors mesenchymal transition and its transcription // *Biosci Rep.* – 2022. – Vol. 42, No. 1. – P. BSR20211754. DOI: 10.1042/BSR20211754.
2. Savagner P. Epithelial-mesenchymal transitions: from cell plasticity to concept elasticity // *Curr Top Dev Biol.* – 2015. – Vol. 112. – P. 273-300. DOI: 10.1016/bs.ctdb.2014.11.021.
3. Yang J., Antin P., Berx G., Blanpain C., Brabletz T., Bronner M., Campbell K., Cano A., Casanova J., Christofori G., Dedhar S., Derynck R., Ford H.L., Fuxe J., García de Herreros A., Goodall G.J., Hadjantonakis A.K., Huang R.Y.J., Kalcheim C., Kalluri R., Kang Y., Khew-Goodall Y., Levine H., Liu J., Longmore G.D., Mani S.A., Massagué J., Mayor R., McClay D., Mostov K.E., Newgreen D.F., Nieto M.A., Puisieux A., Runyan R., Savagner P., Stanger B., Stemmler M.P., Takahashi Y., Takeichi M., Theveneau E., Thiery J.P., Thompson E.W., Weinberg R.A., Williams E.D., Xing J., Zhou B.P., Sheng G. Guidelines and definitions for research on epithelial–mesenchymal transition // *Nat Rev Mol Cell Biol.* – 2020. – Vol. 21. – P. 341-352. DOI: 10.1038/s41580-020-0237-9.
4. Li Z., Pearlman A.H., Hsieh P. DNA mismatch repair and the DNA damage response // *DNA Repair (Amst).* – 2016. – Vol. 38. – P. 94-101. DOI: 10.1016/j.dnarep.2015.11.019.
5. Mladenov E., Magin S., Soni A., Iliakis G. DNA double-strand break repair as determinant of cellular radiosensitivity to killing and target in radiation therapy // *Frontiers in Oncology.* – 2013. – Vol. 3, No. 5. – P. 1-18. DOI: 10.3389/fonc.2013.00113.
6. Stark T.W., Hensley P.J., Spear A., Pu H., Strup S.S., Kyprianou N. Predictive value of epithelial-mesenchymal-transition (EMT) signature and PARP-1 in prostate cancer radioresistance // *Prostate.* – 2017. – Vol. 77, No. 16. – P. 1583-1591. DOI: 10.1002/pros.23435.
7. Исубакова Д.С., Литвяков Н.В., Цымбал О.С., Усова Т.В., Цыпленкова М.Ю., Мильто И.В., Тахауов Р.М. Поиск полиморфных вариантов кандидатных генов индивидуальной радиочувствительности // *Бюллетень сибирской медицины.* – 2022. – Т. 21, № 4. – С. 79-87. DOI: 10.20538/1682-0363-2022-4-79-87.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ФРАКЦИОНИРОВАННОГО РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ И ИММОБИЛИЗАЦИИ НА ПОВЕДЕНИЕ САМЦОВ И САМОК МЫШЕЙ ЛИНИИ C57Bl/6

Е.М. Кадукова¹, Н.Н. Вейalkина^{1,2}

¹Государственное научное учреждение «Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси», Гомель, Республика Беларусь

²Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», Гомель, Республика Беларусь
e-mail: helena.kad@mail.ru

Резюме. Воздействие фракционированного рентгеновского облучения в дозах по 15 и 30 сГр/сутки (5 дней) на фоне стресса, вызванного ограничением подвижности, изменило ряд параметров поведения мышей линии C57Bl/6 в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» и «открытое поле», при этом выраженность поведенческого ответа зависела от пола экспериментальных животных и дозы облучения.

Ключевые слова: мыши, поведение, рентгеновское излучение, иммобилизация, «приподнятый крестообразный лабиринт», «открытое поле».

STUDY OF THE INFLUENCE OF THE COMBINED EFFECT OF FRACTIONED X-RAY IRRADIATION AND IMMOBILIZATION ON THE BEHAVIOR OF MALE AND FEMALE C57Bl/6 MICE

Е.М. Kadukova¹, N.N. Veyalkina^{1,2}

¹State Scientific Institution «Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus», Gomel, Republic of Belarus

²State Institution «Republican scientific and practical center for radiation medicine and human ecology», Gomel, Republic of Belarus
e-mail: helena.kad@mail.ru

Summary. Exposure to fractionated X-ray irradiation in doses of 15 and 30 cGy/day (5 days) against the background of stress caused by limited mobility changed a number of behavioral parameters of C57Bl/6 mice in the elevated plus maze and open field tests. The severity of the behavioral response depended on the sex of the experimental animals and the radiation dose.

Key words: mice, behavior, X-ray radiation, immobilization, elevated plus maze, open field.

Радиационное воздействие признано одним из главных факторов, оказывающих влияние на здоровье человека в условиях космического полета. Для оценки возможных рисков от его воздействия используют различные методы наземного моделирования на экспериментальных животных. Однако адекватная оценка реальной радиационной обстановки космического полета при выполнении модельных экспериментов в лабораторных условиях является трудно воспроизводимой задачей. Проблемы экспериментального исследования комбинированного действия факторов космического полета на функции организма животных рассмотрены в [1].

Опубликованные данные о воздействии ионизирующих излучений, имитирующих действие космического излучения, на показатели поведения мышей и крыс зачастую противоречивы вследствие высокой зависимости от дозы и вида используемого ионизирующего излучения, а также продолжительности экспозиции [2].

И хотя для космической радиобиологии наиболее актуальным является изучение реакций организма при воздействии корпускулярных излучений, но тем не менее расчетная суммарная доза γ -облучения, воздействующая на космонавтов в условиях межпланетного пилотируемого полета, составит в среднем 120-150 сГр, а биологическая

эффективность солнечных космических лучей сопоставима с таковой у рентгеновских лучей и гамма-квантов.

Следует также отметить, что все более широкое использование в исследовательских целях в различных областях, включая лаборатории радиобиологии, получают источники рентгеновского излучения вместо изотопных источников гамма-излучения.

Целью нашей работы являлось изучение поведенческой активности мышей обоего пола линии C57Bl/6, находящихся в условиях комбинированного воздействия некоторых факторов космического полета (ионизирующее излучение, иммобилизация), в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Открытое поле» в разные сроки после облучения.

Исследования осуществлялись на мышах в возрасте 2,5 месяца со средней массой тела 21-25 г, содержащихся в виварии на стандартном рационе в условиях 12-часового цикла «день-ночь», 20-25 °C и 30-60% влажности воздуха.

Экспериментальные животные были разделены на следующие группы, каждая из которых состояла из 14 особей разного пола (7 самок и 7 самцов):

1) интактный контроль; 2) иммобилизация: животные помещались в тесные пеналы как описано в [3] на 2 часа 30 минут ежедневно в течение 5 дней; 3) фракционированное облучение в дозе по 15 сГр (мощность дозы 0,2 сГр/мин) + иммобилизация на 2 часа 30 минут в течение 5 дней; 4) фракционированное облучение в дозе по 30 сГр (мощность дозы 0,2 сГр/мин) + иммобилизация на 2 часа 30 минут в течение 5 дней.

Облучение проводили в облучательной камере рентгеновской установки X-RAD 320 (Precision X-Ray, США). Суммарная доза облучения мышей группы 3 за 5 сеансов составила 0,75 Гр, а группы 4 – 1,5 Гр.

Уровень тревожности мышей оценивали в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ)» («НПК Открытая наука», Россия). Исследование поведения каждой особи в ПКЛ проводили однократно в течение 5 минут на 7-е сутки после начала сеансов облучения. Ориентировочно-исследовательскую активность и эмоциональную реактивность мышей оценивали в тесте «Открытое поле» через сутки после тестирования в ПКЛ.

Все экспериментальные процедуры с лабораторными животными проводились с соблюдением правил и рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных работах (Директива 2010/63/EU).

Статистический анализ результатов осуществляли с использованием пакета статистических программ Statistica 7.0. Межгрупповые различия оценивали в U-тесте Манна–Уитни. Нулевую статистическую гипотезу об отсутствии различий отвергали при $p < 0,05$.

Установлено, что реакция мышей линии C57Bl/6 на воздействие исследуемых факторов в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» и «открытое поле» зависит от пола животных. Так, у самок, подвергнутых воздействию фракционированного рентгеновского излучения в дозах 15 и 30 сГр/сутки, уровень исследовательской активности и интереса к новой среде при тестировании в ПКЛ, оцениваемый по показателю «Количество свешиваний с открытых рукавов лабиринта» соответствовал значению в группе «Интактный контроль», а по показателю «Количество вертикальных стоек в рукавах лабиринта» был снижен по сравнению с значениями в группах «Интактный контроль» и «Иммобилизация».

У самцов в группах после воздействия рентгеновского излучения уровень тревожности снижался по сравнению с соответствующими значениями в группе «Иммобилизация», однако различия между средними значениями не различались при уровне значимости $p < 0,05$: время нахождения в открытых рукавах лабиринта повышалось в 2,1 раза и в 1,51 раза при дозах облучения 15 и 30 сГр/сутки, а общее количество

переходов, совершаемых животными между рукавами в течение времени наблюдения, повышалось на 26,5% и 52,9% соответственно.

У самцов, подвергнутых воздействию фракционированного рентгеновского излучения в исследуемых дозах, были зафиксированы различия в показателях, оцениваемых в тесте «ПКЛ»: наблюдались достоверные различия между показателями «Время нахождения в закрытом рукаве лабиринта», значение которого при дозе облучения в 30 сГр/сутки было в 1,76 раза выше, чем при дозе облучения 15 сГр/сутки, а значение показателя «Время нахождения в центре» было в 1,16 раз ниже соответственно. Также у самцов этой группы повышалось количество реакций груминга по сравнению с значением в группе «Иммобилизация» ($p < 0,05$), и отмечалась тенденция к увеличению количества актов дефекации, что отражало более высокий уровень их психоэмоционального напряжения при нахождении в «ПКЛ» по сравнению с животными других групп.

В докладе будут также представлены результаты оценки поведенческой активности животных исследуемых групп через месяц после окончания воздействия на них фракционированного рентгеновского облучения и иммобилизации.

1. Штемберг, А.С. Проблемы экспериментального исследования комбинированного действия факторов космического полета на функции организма животных // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2004. – Т. 100. – № 10. – С. 1152–1168.
2. Risk of defeats in the central nervous system during deep space missions / V.S. Kokhan [et al.] // *Neurosci. Biobehav. Rev.* – 2016. – Vol. 71. – P. 621–632.
3. Establishment of Restraint Stress-induced Anorexia and Social Isolation-induced Anorexia Mouse Models / I. C. Possa-Paranhos [et al.] // *Bio-protocol.* – 2023. – Vol. 13. – N 2. – e4597.

**ОЦЕНКА АНТИОКСИДАНТНОЙ И РАДИОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ
ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРОДУКТА, ПОЛУЧАЕМОГО В РАМКАХ РЕАЛИЗАЦИИ
КОСМИЧЕСКОГО ЭКСПЕРИМЕНТА (КЭ) «ПРОБИОВИТ»**

*А.И. Кобатов¹, Д.Г. Полянцев¹, И.И. Савин¹, А.Н.Гребенюк¹, Н.А. Верлов²,
И.А. Кулаков², В.С. Бурдаков²*

¹ООО «АлкорБио», Санкт-Петербург, Россия

²Федеральное государственное бюджетное учреждение «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина, Ленинградская область, Россия
e-mail: isavin@alkorbio.ru

Резюме. В работе представлены результаты экспериментов по определению антиоксидантных и радиопротекторных свойств кисломолочного пробиотического продукта «Пробиовит». Показано, что полученный в результате проведения КЭ «Пробиовит» кисломолочный продукт, содержащий живые клетки *Lactobacillus acidophilus* и продукты их метаболизма, обладает антиоксидантными и радиопротекторными свойствами, что позволяет ставить на повестку дня вопрос о возможности использования его в качестве лечебно-профилактического при полетах в дальний космос.

Ключевые слова: космический эксперимент «Пробиовит», кисломолочный пробиотический продукт, *Lactobacillus acidophilus*, антиоксидантная и радиопротекторная активность, γ – облучение.

**ASSESSMENT OF ANTIOXIDANT AND RADIOPROTECTIVE ACTIVITY OF
A PROBIOTIC PRODUCT OBTAINED WITHIN THE FRAMEWORK OF THE SPACE
EXPERIMENT (SE) “PROBIOVIT”**

*A.I. Kobatov¹, D.G. Polyntsev¹, I.I. Savin¹, A.N. Grebenyuk¹, N.A. Verlov²,
I.A. Kulakov², V.S. Burdakov²*

¹AlkorBio LLC, St. Petersburg, Russia

²Federal State Budgetary Institution "Petersburg Institute of Nuclear Physics named after B.P. Konstantinov National research center "Kurchatov Institute", Gatchina, Leningrad region, Russia
e-mail: isavin@alkorbio.ru

Summary. The paper presents the results of experiments to determine the antioxidant and radioprotective properties of the fermented milk probiotic product “Probiovit”. It has been shown that the fermented milk product obtained as a result of the SE “Probiovit”, containing living cells of *Lactobacillus acidophilus* and the products of their metabolism, has antioxidant and radioprotective properties, which allows us to put on the agenda the question of the possibility of using it as a therapeutic and prophylactic during long-distance space flights.

Key words: space experiment "Probiovit", fermented milk probiotic product, *Lactobacillus acidophilus*, antioxidant and radioprotective activity, γ - irradiation.

На протяжении ряда лет (2017 г. – 2023 г.) на борту МКС проводится космический эксперимент «Пробиовит» по разработке технологии получения в условиях космического полета кисломолочного пробиотического продукта, обладающего иммунномодулирующими свойствами. Необходимость наличия подобного рода продукта на борту пилотируемого космического корабля, была обоснована в работах [3, 5]. В то же время, учитывая, что на организм космонавта в процессе полета оказывается высокая радиационная нагрузка, возникает вопрос: в какой степени данный продукт, помимо пробиотических свойств, обладает и радиопротекторной активностью? Ответ на данный вопрос является крайне важным, так как, если сегодня при полете на околоземной орбите космонавты получают дозу порядка 200-250 мЗв/год, что является вполне допустимым,

этого не скажешь в случае выполнения полета в дальний космос (при полетах к Луне и Марсу), когда подобную дозу космонавт получит уже через полгода полета [4].

В качестве объекта исследования в работе рассматривается пробиотический кисломолочный продукт, получаемый на борту МКС в ходе реализации космического эксперимента (КЭ) «Пробиовит».

На первом этапе исследований проводилась оценка антиоксидантных свойств продукта, так как из литературы известно, что подобного рода продукты должны обладать и радиопротекторной эффективностью [2]. Определение антиоксидантной активности полученных как на Земле (контрольных), так и на борту МКС (экспериментальных) образцов кисломолочного пробиотического продукта проводили с использованием метода хемилюминисцентного анализа, который позволяет определять общее количество кислородных радикалов, связываемых антиоксидантами, присутствующими в исследуемом образце [1].

В результате проведения эксперимента показано, что добавление продуктов метаболизма Земных и космических образцов в концентрациях 0,04 мг/мл приводит к снижению интенсивности люминол-зависимой хемилюминисценции модельной системы, что свидетельствует о наличии антиоксидантной активности в исследуемых образцах. Причем, показано, что космический образец обладает более ярко выраженной антиоксидантной активностью. Так, Земной образец снижает исходный уровень светосуммы хемилюминисценции, характеризующий концентрацию свободных кислородных радикалов в модельной системе на 60%, а космический образец - на 85 %. Таким образом, полученные результаты позволяют отнести исследуемый кисломолочный продукт к антиоксидантам средней силы.

Оценку радиопротекторной эффективности исследуемых кисломолочных пробиотических продуктов проводили посредством регистрации динамики летальности мышей, подвергнутых γ – облучению. Эксперименты проводились на радиочувствительных мышах линии BALB-с. Всего было проведено 3 эксперимента, отличающиеся как по способу облучения: однократное или пролонгированное (фракционированное), так и по поглощаемой дозе – 8 Грей и 10 Грей. Облучение проводилось на кобальтовой Гамма-установке для радиационных исследований РХ- γ -30 посредством внешнего γ - облучения животных. В каждом эксперименте использовались 4 группы животных: контрольная группа, группа, с предварительно введенным внутрибрюшинно одним из известных радиопротекторов: гепарин или индралин, а также экспериментальная группа, потребляющая пробиотический продукт «Пробиовит». Предварительно, перед облучением, в течение 10 суток производилось кормление экспериментальных животных кисломолочным продуктом «Пробиовит» посредством внутрижелудочного зондирования.

Кормление выживших в результате облучения экспериментальных животных в каждом эксперименте продолжалось в последующем в течение всего срока наблюдения.

1. Установлено, что кисломолочный продукт «Пробиовит» обладает антиоксидантным потенциалом, позволяющим отнести его к антиоксидантам средней силы.

2. Показано, что потребление кисломолочного продукта «Пробиовит», содержащего живые клетки ацидофильных лактобацилл и продукты их метаболизма, оказывает защитный эффект на мышей подвергнутых γ – облучению. Так выживаемость в экспериментальной группе мышей превышает выживаемость в контрольной на 9% - 35% в зависимости от дозы и способа облучения.

3. Оказываемый кисломолочным продуктом радиозащитный эффект сравним по уровню защиты с широко используемыми на территории РФ химическими радиопротекторами: индралином и гепарином, однако в отличие от последних, кисломолочный продукт не обладает побочным действием.

4. Радиозащитный эффект от кисломолочного продукта, потребляемого как перед облучением животных, так и на протяжении всего периода наблюдения за животными в процессе проведения эксперимента, проявляется более ярко в области сублетальных доз облучения.

1. Владимиров Г.К., Сергунова Е.В., Измайлов Д.Ю., Владимиров Ю.А. Хемилюминесцентная методика определения общей антиоксидантной емкости в лекарственном растительном сырье // Вестник РГМУ. – 2016. – №2. – С. 65-72.

2. Гладких В.Д. / Состояние и перспективы развития средств профилактики и лечения радиационных поражений. / - 2017, М.: Комментарий. - 304 С.

3. Кобатов А.И. Обоснование возможности использования кисломолочного пробиотического продукта для снижения медицинских рисков полетов в дальний космос. // Пилотируемые полеты в космос. - 2018. – Т. 27. - № 2. - С. 81 – 98.

4. Фадеев А.В., Королев Л.М., Сорокин В.Г. и др. Влияние космической радиации на облик космических полетов. // Пилотируемые полеты в космос. – 2023.-Т. 48. № 3. – С104 – 113.

5. Gut Microbiome and Space Travelers' Health: State of the Art and Possible Pro/Prebiotic Strategies for Long-Term Space Missions. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.553929> (дата обращения 8.05.2024)

**ИССЛЕДОВАНИЕ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ
ЭРИТРОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ МЫШЕЙ
ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ОБЛУЧЕННЫХ И НЕОБЛУЧЕННЫХ ЖИВОТНЫХ
КАК МОДЕЛЬ МОДИФИЦИРУЮЩЕГО ВЛИЯНИЯ НА ПОСТРАДИАЦИОННОЕ
ВОССТАНОВЛЕНИЕ**

И.Н. Козарко¹, В.В. Петушкова¹, О.В. Ктиторова¹, Е.А. Пряхин², И.И. Ганев¹

¹Федеральный исследовательский центр химической физики

им. Н.Н. Семенова Российской академии наук, Москва, Россия

²Уральский научно-практический центр радиационной медицины Федерального медико-биологического агентства России, Челябинск, Россия

e-mail: vladapetushkova@yandex.ru

Резюме. В эксперименте на облученных и необлученных мышах, содержащихся совместно в течение 90 сут, изучались радиационно-индуцированный «эффект спасения» и «эффект свидетеля» после облучения в дозе 3 Гр. В опытах с применением микроядерного теста эритроцитов получены статистически значимые данные по наличию «эффект спасения», выраженного в снижении числа повреждённых эритроцитов периферической крови (ПК) у облученных животных. С другой стороны, радиационно-индуцированное поражение клеток ПК крови выразилось в появлении «эффекта свидетеля». Полученные результаты можно представить как модель снижения повреждающего действия радиации.

Ключевые слова: эритроциты, радиационно-индуцированное поражение, «эффект спасения», «эффект свидетеля», снижение уровня радиационных повреждений

**STUDY OF RADIATION-INDUCED CHANGES IN PERIPHERAL BLOOD
ERYTHROCYTES OF MICE DURING THE INTERACTION OF IRRADIATED AND
NON-IRRADIATED ANIMALS AS A MODEL OF MODIFYING EFFECT ON POST-
RADIATION RECOVERY**

I.N. Kogarko¹, V.V. Petushkova¹, O.V. Ktitorova¹, E.A. Pryakhin², I.I. Ganeev¹

¹N.N. Semyonov Federal Research Center for Chemical Physics, Russia Academy of Science, Moscow, Russia

²Urals Research Center of Radiation Medicine, Federal Medical Biology Agency of Russia, Chelyabinsk, Russia

e-mail: vladapetushkova@yandex.ru

Summary. In an experiment on irradiated and non-irradiated mice kept together for 90 days, the radiation-induced "rescue effect" and the "bystander effect" after irradiation at a dose of 3 Gy were studied. In experiments with the use of the erythrocyte micronucleus test, statistically significant data were obtained on the presence of the "rescue effect", expressed in a decrease in the number of damaged erythrocytes of the peripheral blood cells in irradiated animals. On the other hand, radiation-induced damage of peripheral blood cells was expressed in the appearance of the "bystander effect". The results obtained can be presented as a model for reducing the damaging effect of radiation.

Key words: erythrocytes, radiation-induced injury, "rescue effect", "bystander effect", reduction of radiation damage

В данной работе было показано, что реагируя на ионизирующее излучение (ИИ), облученные клетки млекопитающих способны передавать внеклеточные сигналы необлученным соседним клеткам. Описано также явление, названное «эффекты спасения», при котором клетки – «свидетели» снижали радиационно-индуцированные изменения в облученных клетках с помощью сигнала межклеточной обратной связи. Наблюдаемый «эффект спасения» возможно применить как тест для определения модифицирующего влияния фактора контакта на пострадиационное восстановление.

Необходимо отметить, что наряду с цитотоксическим эффектом в клетках-«свидетелях» регистрируется и цитопротективные эффекты, например, повышение их радиорезистентности. Целью исследования явилось изучение пострадиационного ответа у облученных мышей при их непосредственном взаимодействии с необлучёнными и получение «эффекта спасения» с применением данного эффекта для определения радиопротекторного действия.

В эксперименте были использованы облучённые и необлученные мыши, которые содержались совместно. Мыши были облучены в дозе 3 Гр на исследовательской радиобиологической гамма-установке с 4 источниками ^{137}Cs . Оценивали частоту полихроматофильных эритроцитов (ПХЭ) с микроядрами, нормальных хроматофильных (оксифильных) (НХЭ) эритроцитов с микроядрами, суммарного количества эритроцитов в периферической крови у мышей через 3, 7, 14, 30, 60 и 90 сутки после начала эксперимента. Микроядерный тест является эффективным инструментом оценки генотоксического действия различных факторов, нарушений, связанных с нестабильностью генома, а также других клеточных патологических процессов, связанных с повреждением ДНК, хроматина и нарушением деления клеток. Статистический анализ проводили с помощью *t*-критерия Стьюдента. Различия принимали статистически значимыми при вероятности 0-гипотезы $p < 0,05$.

У облученных животных было выявлено статистически значимое снижение частоты НХЭ с микроядрами при сравнении с гамма-контролем t_2 : 1) на 3-и сутки после начала эксперимента при содержании в одной клетке без перегородки $t_2 = 2,35$; $p = 0,03$; 2) на 14-е сутки как в группе, где животных содержали без перегородки $t_2 = 6,03$; $p = 0,000011$, так и в группе с перегородкой $t_2 = 3,29$; $p = 0,004$; 3) на 60-е сутки в группе, где животных содержали без перегородки $t_2 = 2,8$; $p = 0,01$. Полученный результат свидетельствует, что контакт между облученными и необлученными мышами может способствовать понижению числа повреждённых клеток в организме облученного животного. Это может быть обозначено как «эффект спасения». Выявленный эффект можно применить как тест биопозитивного влияния на облученные ионизирующим излучением клетку. Полученным результатам предшествовали работы по нахождению «эффекта свидетеля» при взаимодействии необлученных и облучённых животных.

У необлученных мышей – «свидетелей», содержащихся с облученными мышами в клетке с перегородкой, на 14-е сутки выявлена тенденция к превышению частоты микроядерных эритроцитов показателей в биоконтроле ($t_1 = 1,79$; $p = 0,09$). На 60-е сутки у необлученных мышей – «свидетелей», содержащихся с облученными мышами в клетке без перегородки, также выявлена тенденция к превышению частоты микроядерных эритроцитов показателей в биоконтроле ($t_1 = 1,39$; $p = 0,18$). На основании полученных в настоящем эксперименте данных, делается предположение, что радиационный «эффект свидетеля» имеет обратный характер, то есть необлученные организмы способны снижать радиационные эффекты у облученных особей – «эффект спасения». Следовательно, «эффект спасения» и «эффекта свидетеля» могут являться разными сторонами одного и того же процесса пострадиационных изменений. При этом эффект спасения может быть рассмотрен как тест снижения уровня повреждающего действия радиации.

1. Пелевина И.И., Аклев А. В., Когарко И. Н., В. В. Петушкова В.В., Когарко Б. С., Пряхин Е. А., Нейфах Е. А., Ктиторова О. В., Андреев С. С. Радиационно-химическое воздействие ионизирующего излучения на организм и генотоксические нарушения системы крови// Химическая физика, 2021, Т. 40, № 12, с. 48-55
2. Pelevina I.I., Kogarko I. N., Pryakhin E. A. Petushkova V. V., Kogarko B. S., Neifakh E. A., Andreev S. S., Kitorova O. V., Ganeev I.I. Study of the state of the blood system of animals irradiated and un irradiated by ionizing radiation in contact// Biology Bulletin, 2022, V. 50(11), pp. 2956–2961. DOI: 10.1134/S1062359023110171

3. Richard S., Wang J., Seymour C., Fernandez-Palomo C., Fazzari J., Schültke E., Bräuer-Krisch E., Laissue J., Schroll C., Mothersill C. Homogenous and Microbeam X-Ray Radiation Induces Proteomic Changes in the Brains of Irradiated Rats and in the Brains of Nonirradiated Cage Mate Rats // Dose Response, 2018, Jan 22. 16(1):1559325817750068. DOI: 10.1177/1559325817750068. eCollection Jan-Mar 2018. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29383012/> (Accessed 08.07.2022)

ПОВЫШЕНИЕ МОДИФИЦИРУЮЩЕГО ЭФФЕКТА АРАБИНОЗИД ЦИТОЗИНА ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ

*Р.А. Кожина¹, Е.А. Кузьмина^{1,2}, С.И. Тиунчик¹, Т.З. Фам^{1,3}, В.Н. Чаусов^{1,2},
А.В. Бореико^{1,2}*

¹Лаборатория радиационной биологии, Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия

²Государственный университет «Дубна», Дубна, Россия

³Вьетнамский национальный университет, Ханой, Вьетнам

e-mail: kozghina@jinr.ru

Резюме. Методом ДНК-комет определены зависимости частоты образования ДР ДНК и кинетика их репарации в нормальных и опухолевых клетках млекопитающих и человека при облучении в обычных условиях и в присутствии модификаторов. Показано, что количество формируемых при облучении рентгеновским излучением и ускоренными протонами ДР ДНК в условиях влияния АраЦ достоверно возрастает. Выявлено повышение эффективности модифицирующего эффекта АраЦ при облучении в комбинации с гидроксимочевинной, SCR7 пиазином и бензамидом.

Ключевые слова: двунитевые разрывы, репарация ДНК, ингибиторы репарации, арабинозид цитозин, глиобластома, меланома.

INCREASING THE MODIFYING EFFECT OF CYTOSINE ARABINOSIDE UNDER EXPOSURE TO IONIZING RADIATION

*R.A. Kozghina¹, E.A. Kuzmina^{1,2}, S. I. Tiunchik¹, T.Z. Pham^{1,3}, V.N. Chausov^{1,2},
A.V. Boreyko^{1,2}*

¹Laboratory of Radiation Biology, Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, Russia

²State University "Dubna", Dubna, Russia

³Vietnam National University, Hanoi, Vietnam

e-mail: kozghina@jinr.ru

Summary. The DNA comet assay was used to determine the dependence of the frequency of DNA DSB formation and the kinetics of their repair in normal and tumor cells of mammals and humans upon irradiation under normal conditions and in the presence of modifiers. It has been shown that the number of DNA DSBs formed during irradiation with X-rays and accelerated protons under the influence of AraC significantly increases. An increase in the effectiveness of the modifying effect of AraC was revealed when irradiated in combination with hydroxyurea, SCR7 pyrazine and benzamide.

Key words: double-strand breaks, DNA repair, repair inhibitors, arabinoside cytosine, glioblastoma, melanoma.

Поиск подходов, направленных на изменение чувствительности клеток к действию ионизирующих излучений, является одной из актуальных задач радиобиологии. Перспективными представляются исследования модифицирующего действия агентов, влияющих на процессы репарации поврежденных ДНК. В этой связи представляют интерес агенты, оказывающие влияние на выход двунитевых разрывов (ДР) ДНК. Одним из таких агентов является арабинозид цитозин (АраЦ), который является эффективным ингибитором ДНК-полимеразы α , и в меньшей степени β , ведущих репаративный синтез ДНК. Известно, что при облучении редкоионизирующими излучениями существенную часть спектра формируемых повреждений составляют одностебельные разрывы (ОР) ДНК, а также поврежденные основания. В ходе работы эксцизионной репарации оснований АраЦ может встраиваться в нить ДНК, блокируя дальнейшую работу полимераз. При длительной фиксации нерепарируемых прямых одностебельных разрывов ДНК, либо ОР,

образующихся в ходе эксцизионной репарации модифицированных оснований, такие повреждения ДНК могут являться сайтами при формировании энзиматических ДР ДНК в результате атаки нити, оппозитной поврежденному участку, эндонуклеазами типа S1.

Ранее нами было показано, что в условиях влияния АраЦ увеличивается выход ДР ДНК при γ -облучении клеток различного типа. Но, поскольку на выход ДР ДНК может оказывать влияние эффективность работы систем репарации, то возникает необходимость в изучении комбинированного действия различного рода модификаторов, ингибирующих отдельные этапы репарации и повышающих эффективность работы АраЦ. В настоящей работе в качестве таких модификаторов были использованы ингибитор рибонуклеотид редуказы – гидроксимочевина (ГМ), ингибитор лигазы IV – SCR7 пиразин, и ингибитор поли[АДФ-рибоза]полимеразы 1 – бензамид.

Целью данной работы явилось исследование эффективности повышения модифицирующего эффекта АраЦ на индукцию и репарацию ДР ДНК в нормальных и опухолевых клетках млекопитающих, при его комбинированном применении с ГМ, SCR7 пиразином и бензамидом при действии ускоренных протонов и рентгеновского излучения.

С использованием метода ДНК-комет были изучены зависимости частоты образования ДР ДНК в нормальных (лимфоциты и фибробласты человека) и опухолевых клетках (клетки глиобластомы человека линии U87 и клетки меланомы B16 мышей) при облучении различными типами ионизирующих излучений: рентгеновское излучение и протоны в пике Брэгга. Установлено, что для всех использованных видов излучений наблюдается линейный характер выхода ДР ДНК. Показано, что количество формируемых при облучении всеми типами использованных излучений ДР ДНК в условиях влияния АраЦ значительно возрастает. Величина фактора изменения дозы (ФИД), определяемая как $ФИД = k_{мод}/k_{норм}$, где $k_{мод}$ и $k_{норм}$ – параметры наклона зависимостей «доза-эффект» при действии радиомодификаторов и в нормальных условиях инкубации, для лимфоцитов периферической крови человека после облучения рентгеновским излучением при действии только АраЦ, составляет $1,20 \pm 0,13$. При комбинированном действии АраЦ и ингибиторов ферментов репарации наблюдается увеличение выхода радиационно-индуцированных ДР ДНК. При этом значения ФИД для клеток глиобластомы после облучения протонами в пике Брэгга при действии только АраЦ, составляет $1,38 \pm 0,08$, а для комбинации агентов АраЦ+ГМ – $2,01 \pm 0,12$. Для фибробластов человека значения ФИД при облучении протонами для АраЦ и АраЦ+ГМ составило $1,96 \pm 0,10$ и $2,65 \pm 0,18$, соответственно. Выход ДР ДНК при облучении клеток меланомы мышей при облучении рентгеновскими лучами в условиях влияния АраЦ близок к наблюдаемому для клеток глиобластомы и величина ФИД так же составляет $1,38 \pm 0,08$, для комбинации АраЦ+SCR7 величина ФИД составляет $1,58 \pm 0,11$. В эксперименте с использованием комбинации АраЦ и бензамида при облучении клеток меланомы B16 рентгеновским излучением значения ФИД для АраЦ и АраЦ+бензамид составили $1,97 \pm 0,17$ и $2,31 \pm 0,20$, соответственно.

Изучена кинетика репарации ДР ДНК в условиях влияния радиомодификаторов. В экспериментах показано, что в нормальных условиях репарация повреждений осуществляется по экспоненциальной кинетике и к 6 ч пострадиационной инкубации практически заканчивается. В условиях влияния ингибиторов кинетика репарации ДР ДНК имеет сложный характер. До 6 часов пострадиационного периода наблюдается возрастание количества ДР ДНК с последующим снижением к 24 ч наблюдения. При этом для лимфоцитов периферической крови человека уровень ДР ДНК через 6 часов в условиях влияния АраЦ превышает контрольный уровень в ~ 9 раз. Для клеток глиобластомы уровень ДР ДНК на всех временных интервалах в условиях комбинированного действия АраЦ+ГМ превышает уровень ДР при действии только АраЦ на ~ 20 -25%. Уровень же поврежденных через 24 ч превышает контрольный в $\sim 5,4$ и 7 раз для АраЦ и АраЦ+ГМ, соответственно. Характер кинетики репарации ДР ДНК в клетках меланомы мышей аналогичен клеткам глиобластомы и как отдельный АраЦ, так и

комбинация АраЦ+SCR7 оказывают существенное модифицирующее влияние на формирование ДР ДНК в клетках В16. При этом эффективность комбинации АраЦ+SCR7 выше АраЦ на 10-15% и только через 24 ч на ~40%. Так же уровень повреждений через 24 ч превышает контрольный в ~5,8 и 10 раз. В условиях модифицирующего действия АраЦ+бензамид при облучении рентгеновским излучением уровень ДР ДНК через 24 ч превышал контрольный уровень в ~4,6 раза.

Таким образом, было установлено, что наиболее ярко радиосенсибилизирующий эффект действия АраЦ проявляется при ~~его~~ комбинированном ~~воздействии~~ с другими модификаторами. В условиях совместного использования модификаторов (АраЦ+ГМ, АраЦ+SCR7 и АраЦ+бензамид) количество ДР ДНК существенно превышает количество ДР ДНК, формируемых только при действии ионизирующих излучений без использования модификаторов. Кинетика репарации ДР ДНК в условиях влияния различных комбинаций ингибиторов синтеза ДНК имеет сложную зависимость и характеризуется увеличением выхода повреждений ДНК вплоть до 6 ч пострадиационной инкубации, после чего их количество начинает снижаться. Однако, даже через 24 ч после воздействия ионизирующего излучения количество ДР ДНК в условиях действия ингибиторов превышает контрольный уровень повреждений. В работе обсуждаются возможные механизмы комбинированного действия использованных радиомодификаторов при облучении нормальных и опухолевых клеток.

**ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ МОЛГРАМОСТИМА
ПРИ РАДИАЦИОННОМ ПОРАЖЕНИИ
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

А.Ю. Кондаков, Д.В. Ремизов, И.С. Драчев, В.С. Кудряшов, П.В. Тихомиров

Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной
медицины Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
e-mail: gniiivm_2@mil.com

Резюме. Установлено, что 14-кратное (с интервалом 12 ч) подкожное введение препарата молграмостим в дозе 5 мкг/кг мышам после облучения в среднетлетальной дозе (6 Гр), оказывает выраженное противолучевое действие. Применение молграмостима увеличивает выживаемость мышей на 30 %, способствует более раннему, по сравнению с облученными животными контрольной группы, восстановлению содержания форменных элементов периферической крови (к 10 сут число лейкоцитов было больше на 50 %, а количество лимфоцитов, эритроцитов и тромбоцитов – на 10 %, чем у животных, не получавших препарат).

Ключевые слова: гемопоэз, колониестимулирующий фактор, ионизирующее излучение, острое радиационное поражение, фактор изменения дозы.

**MOLGRAMOSTIM EFFICIENCY TRIAL IN ACUTE RADIATION DAMAGE
(EXPERIMENTAL STUDY)**

A.Yu. Kondakov, D.V. Remizov, I.S. Drachev, V.S. Kudryashov, P.V. Tikhomirov

State Scientific Research Test Institute of Military Medicine, Ministry of
Defense of the Russia Federation, Saint Petersburg, Russia
e-mail: gniiivm_2@mil.com

Summary. It has been established that 14-fold (with an interval of 12 hours) subcutaneous administration of the drug molgramostim at a dose of 5 µg/kg to mice after irradiation at an average lethal dose (6 Gy) has a pronounced anti-radiation effect. The value of the dose change factor when the drug is administered at the optimal dose is 1.16. The use of molgramostim increases the survival rate of mice by 30%, contributes to an earlier, compared with irradiated animals of the control group, restoration of the content of peripheral blood cells (by day 10, the number of leukocytes was 50% more, and the number of lymphocytes, erythrocytes and platelets - by 10% than in animals that did not receive the drug).

Key words: hematopoiesis, colony-stimulating factor, ionizing radiation, acute radiation injury, dose modification factor.

Широкое применение источников ионизирующих излучений в промышленности, науке и медицине повышает вероятность возникновения у персонала радиационных поражений (РП) различной степени тяжести [1, 2]. Патогенетические механизмы действия большинства известных средств раннего лечения РП реализуются через клеточные и гуморальные факторы гемо- и иммунопоэза, активация которых способствует восстановлению костномозгового кроветворения и иммуногенеза, повышению функциональной активности систем организма, определяющих характер течения и исход РП [3]. Стимулирующее действие на пролиферацию кроветворных клеток, а так же созревание моноцитов/макрофагов, оказывают колониестимулирующие факторы, которые кроме того препятствуют радиационно-индуцированному апоптозу [4].

Целью исследования было изучение специфической эффективности молграмостима в условиях общего однократного γ -облучения в среднетлетальной дозе.

Эксперименты выполнены на нелинейных мышах-самцах, массой 18,0-20,0 г. Животных подвергали внешнему острому однократному облучению на установке «ИГУР-1» (^{137}Cs) в дозе 6,0 Гр, при мощности дозы 0,998 Гр/мин.

Молграмостим (Неостим®) – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного и подкожного введения, 150 мкг ($1,67 \times 10^6$ МЕ), производитель Сямэнь Амоитоп Биотех Ко. Лтд (НР Китай). Препарат применяли подкожно в течение 7 сут с интервалом 12 ч. Для определения оптимальной радиозащитной дозы молграмостим вводили в различных дозировках (1; 2,5; 5 и 10 мкг/кг). Эффективность препарата оценивали по его влиянию на выживаемость и среднюю продолжительность жизни (СПЖ) павших животных, а также на динамику показателей периферической крови.

Облучение мышей в дозе 6 Гр характеризовалось развитием РП средней степени тяжести. Выживаемость составила $50 \pm 15\%$, а величина СПЖ – 24 ± 3 сут. Применение молграмостима в дозах 1 и 2,5 мкг/кг существенным образом не влияло на течение и исходы РП. Лечебную эффективность препарат начинал оказывать при использовании в дозе 5 мкг/кг, что способствовало предотвращению гибели облученных животных в 100 % случаев. Дальнейшее увеличение дозы препарата (до 10 мкг/кг) не приводило к усилению эффекта. Значения выживаемости и СПЖ облученных мышей, получавших препарат в этой дозе не отличались от соответствующих показателей в группе животных, которым вводили препарат в дозе 5 мкг/кг. Необходимо отметить, что введение молграмостина в максимальной из исследованных доз (10 мкг/кг) сопровождалось гибелью животных на фоне существенного истощения. Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что оптимальной для лечения РП мышей, облученных в ЛД₅₀, оказалась доза молграмостима – 5 мкг/кг.

Одним из интегральных показателей эффективности противолучевых средств является величина ФИД. Это значение рассчитывается как отношение ЛД₅₀ облучения с применением лекарственного средства к ЛД₅₀ при изолированном воздействии. На основании полученных данных, методом пробит-анализа были рассчитаны величины доз облучения, приводящие к гибели 50 % животных без введения препарата и при его использовании. У животных контрольной группы расчетная величина ЛД₅₀ составляет $5,83 \pm 1,04$ Гр. Введение препарата ГМ-КСФ в дозе 5 мкг/кг увеличивает данный показатель до $6,79 \pm 1,05$ Гр. Таким образом, значение ФИД препарата молграмостим при введении в оптимальной дозе в опытах на мышах составляет $6,79 / 5,83 \approx 1,16$.

Исследование состава периферической крови облученных животных в динамике показало, что воздействие γ -излучения сопровождалось выраженным снижением количества форменных элементов. Развитие лейко- и лимфопении наблюдали на 3–10 сут после радиационного воздействия. Количество клеток периферической крови снижалось в среднем на 87 % от исходных значений. Такую же тенденцию наблюдали и при подсчете количества эритроцитов, однако их снижение носило более плавный характер. В первые 10 сут количество эритроцитов было снижено в среднем на 29 % от значений, зарегистрированных у животных до облучения. Кроме того, в течение первых 7 сут после воздействия количество тромбоцитов снижалось и в среднем было на 17 % меньше, чем у интактных животных. Начиная с 14 сут у облученных мышей отмечали тенденцию к восстановлению числа клеток периферической крови. Так, количество лейкоцитов и лимфоцитов у животных с РП увеличивалось в 2 раза, эритроцитов – в 1,2 раза, тромбоцитов – 1,1 раза, в сравнении с показателями, зарегистрированными на 3 сут. К 21 сут происходило дальнейшее восстановление клеточного состава периферической крови, приближаясь к исходным значениям.

При введении экспериментальным животным препарата молграмостим количество форменных элементов периферической крови оставалось сниженным в течение первых 3 сут после облучения. Однако, уже к 10 сут число лейкоцитов было в 1,5 раза выше, а количество лимфоцитов, эритроцитов и тромбоцитов увеличивалось в среднем в 1,1 раза, в сравнении с показателями, зарегистрированными у облученных мышей, не получавших препарат. К 14 сут численность клеточного состава периферической крови мышей

продолжала увеличиваться и, к 21 сут исследования значения соответствовали исходным показателям.

Таким образом, установлено, что оптимальная доза молграмостима для терапии РП у мышей составляет 5 мкг/кг. Её введение, облученным в среднетельной дозе мышам способствует более раннему восстановлению количества форменных элементов периферической крови, по сравнению с животными не получавшими препарат. Восстановление численного состава клеток периферической крови облученных мышей начиналось на 14 сут, тогда как у животных при введении препарата – на 10 сут.

1. <http://www.iaea.org/PRIS/WorldStatistics/Operational-ReactorsByCountry.aspx>.
2. <http://www-pub.iaea.org/books/IAEABooks/10903/Nuclear-Power-Reactors-in-the-World-2015-Edition>.
3. Симбирцев А.С. Кетлинский С.А. Перспективы использования цитокинов и индукторов синтеза цитокинов в качестве радиозащитных препаратов // Радиационная биология. Радиоэкология. 2019. Т 59. № 2. С. 170-176.
4. Hofer M., Pospíšil M., Komůrková D. et al. Granulocyte colony-stimulating factor in the treatment of acute radiation syndrome: a concise review // *Molecules*. 2014. V. 19. № 4. P. 4770–4778.

ИССЛЕДОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ ФТОРИДА ЦЕРИЯ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ ФЛАВИНМОНОНУКЛЕОТИДОМ, ДЛЯ ЦЕЛЕЙ РЕНТГЕНОВСКОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

А.И. Корниенко¹, М.П. Шевелева², В.Е. Иванов¹, Н.Р. Попова¹

¹ Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, Пушкино, Россия

² Институт биологического приборостроения Российской академии наук, Пушкино, Россия
e-mail: An.Kor7@yandex.ru

Резюме. В исследовании предложен метод синтеза нового фотосенсибилизирующего агента для потенциального применения в рентгеновской фотодинамической терапии. Были оценены его физико-химические свойства и влияние на клеточные культуры *in vitro*. Показано, что полученные наночастицы обладают необходимыми характеристиками для использования в биомедицине и не проявляют цитотоксичность.

Ключевые слова: рентгеновская фотодинамическая терапия, фотосенсибилизатор, наночастицы, фторид церия, флавинмононуклеотид.

INVESTIGATION OF CERIUM FLUORIDE NANOPARTICLES MODIFIED WITH FLAVIN MONONUCLEOTIDE FOR X-RAY PHOTODYNAMIC THERAPY

A.I. Kornienko¹, M.P. Sheveleva², V.E. Ivanov¹, N.R. Popova¹

¹ Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia

² Institute for Biological Instrumentation of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia
e-mail: An.Kor7@yandex.ru

Summary. The study proposes a novel method for the synthesis of a photosensitizing agent that could potentially be used in X-ray photodynamic therapy. The physicochemical properties of the agent and its effect on cell cultures were evaluated *in vitro*. It was found that the nanoparticles produced had the necessary characteristics for biomedical applications and did not exhibit cytotoxicity.

Key words: X-ray photodynamic therapy, photosensitizer, nanoparticles, cerium fluoride, flavin mononucleotide.

Фотодинамическая терапия (ФДТ) является одним из эффективных методов лечения поверхностных опухолей. Принцип стандартной ФДТ заключается в накоплении фотосенсибилизатора (ФС) в опухолевой ткани с последующим воздействием на нее света с определенной длиной волны (чаще УФ/видимом и ИК-диапазоне) с последующим образованием цитотоксических активных форм кислорода (АФК) [1]. Основным недостатком такого метода является ограниченная глубина проникновения используемого в терапии излучения (до 1 см), что затрудняет его применение к глубоким и крупным опухолям [1, 2]. Рентгеновские лучи, являясь электромагнитной волной с высокой проникающей способностью, обладают преимуществом неограниченной глубины проникновения в ткани по сравнению с УФ, видимым и ближним ИК излучением. В связи с этим недавно было предложено использовать рентгеновское излучение в качестве источника возбуждения в ФДТ. Новый подход для глубокой терапии опухолей был назван рентгеновской ФДТ (РФДТ) [3]. В связи с чем, актуальной проблемой является поиск и разработка новых ФС-сцинтилляторов. Для этой цели перспективными являются сцинтилляционные наноматериалы, такие как наночастицы (НЧ) на основе редкоземельных элементов, например CeF₃, LaF₃, NaYF₄, Gd₂(WO₄)₃ и другие [4].

В данной работе мы предлагаем в качестве комбинированного сцинтилляционного ФС- НЧ фторида церия (CeF₃), модифицированных флавинмононуклеотидом (ФМН). CeF₃

является высокоэффективным сцинтиллятором, люминесценция которого характеризуется широким пиком в УФ-области с максимумом около 325 нм [5], а ФМН в свою очередь проявляет сильное поглощение в УФ/видимой области при 220, 265, 375 и 445 нм [6]. Эти данные позволяют предположить возможность передачи энергии от CeF_3 к ФМН и его фотоактивацию.

Таким образом, целью данного исследования являлись синтез НЧ CeF_3 и CeF_3 , модифицированных ФМН, анализ их физико-химических свойств и исследование цитотоксичности.

НЧ CeF_3 были синтезированы по методике осаждения в спиртовых средах [7] с последующей функционализацией их ФМН. Методом динамического рассеяния света было показано, что все НЧ имеют гидродинамический диаметр менее 200 нм, что позволяет использовать их в биомедицинских целях. Методом просвечивающей электронной микроскопии было показано, что полученные НЧ обладают преимущественно сферической формой. Методом электрофоретического рассеяния света показано, что заряд НЧ находится в диапазоне значений от +37 до +47 мВ, что свидетельствует о высокой стабильности и низкой степени агломерации синтезированных нами НЧ. Установлено, свежеприготовленные золи имеют кислый рН (в диапазоне значений 3,1-4,1 для разных образцов). Для использования наночастиц в биологических тестах значение рН зольей доводилось до нейтральных методом диализа (24 ч).

Исследование спектральных характеристик методами спектрофотометрии и спектрофлуориметрии косвенно подтвердило возможность передачи энергии возбуждения от CeF_3 к ФМН в синтезированной нами наносистеме. Установлено, что квантовый выход флуоресценции НЧ CeF_3 составляет 0,50, а в комплексе CeF_3 + FMN – 0,16. Это позволяет сделать вывод о том, что в синтезированной нами наносистеме ФМН эффективно поглощает свет, излучаемый возбужденным CeF_3 . Анализ образования АФК с использованием дихлордигидрофлуоресцеина диацетата ($H_2DCF-DA$) при разном рН и воздействии рентгеновским излучением показал, что в кислой и нейтральной среде синтезированные нами наночастицы проявляют прооксидантные свойства и увеличивают количество АФК в 14 и 8 раз соответственно относительно контроля (без НЧ).

Оценка цитотоксичности синтезированных наночастиц CeF_3 и CeF_3 , модифицированных ФМН, проводилась методами МТТ-теста и Live/Died-анализа на клетках мышинных фибробластов (L929), меланомы мыши (B16-F10) и эпидермоидной карциномы человека (A431). Клетки инкубировали с исследуемыми образцами в концентрациях 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} М. Установлено, что в исследуемом диапазоне концентраций исследуемые НЧ CeF_3 и CeF_3 , модифицированный ФМН, не проявляют токсического действия на нормальные (L929) и трансформированные клетки (B16-F10, A431), не приводят к снижению их жизнеспособности и не достигают IC50 в течение 24-72 часов.

При исследовании влияния наночастиц на рост и пролиферативную активность нормальных и трансформированных клеток в клоногенном тесте показано статистически значимое увеличение площади колоний B16-F10 на 24% и 36% при инкубации в присутствии НЧ CeF_3 и CeF_3 +FMN в концентрации 10^{-7} М соответственно. Таким образом, инкубация нормальных и трансформированных клеток в присутствии исследуемых наночастиц в концентрациях 10^{-7} - 10^{-3} М не приводит к подавлению роста, пролиферативной активности и способности данных клеток образовывать колонии.

Эти результаты свидетельствуют о высокой биосовместимости и низкой токсичности синтезированных нами НЧ. Полученные данные являются многообещающими для потенциальных исследований наноконъюгата CeF_3 , модифицированного ФМН, в экспериментах с использованием рентгеновского излучения.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 23-23-00564.

1. Correia J. H. et al. Photodynamic therapy review: principles, photosensitizers, applications, and future directions //Pharmaceutics. – 2021. – T. 13. – №. 9. – C. 1332.
2. Wang G. D. et al. X-ray induced photodynamic therapy: A combination of radiotherapy and photodynamic therapy //Theranostics. – 2016. – T. 6. – №. 13. – C. 2295.
3. Chen W., Zhang J. Using nanoparticles to enable simultaneous radiation and photodynamic therapies for cancer treatment //Journal of nanoscience and nanotechnology. – 2006. – T. 6. – №. 4. – C. 1159-1166.
4. Yao B. et al. X-ray excited luminescent nanoparticles for deep photodynamic therapy //RSC advances. – 2023. – T. 13. – №. 43. – C. 30133-30150.
5. Clement S. et al. Bright, water-soluble CeF₃ photo-, cathodo-, and X-ray luminescent nanoparticles //Journal of Nanoparticle Research. – 2015. – T. 17. – C. 1-9.
6. Edwards A. M. Structure and general properties of flavins //Flavins and Flavoproteins: Methods and Protocols. – 2014. – C. 3-13.
7. Shcherbakov A. B. et al. Cerium fluoride nanoparticles protect cells against oxidative stress //Materials Science and Engineering: C. – 2015. – T. 50. – C. 151-159.

ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК КИТАЙСКОГО ХОМЯЧКА ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ В ПРИСУТСТВИИ БОРСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ

*Е.В. Корякина¹, У.М. Корнеева², М.В. Трошина¹, А.А. Пичкунова¹,
С.Н. Корякин^{1,2}, С.А. Успенский³*

¹ Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия

² Обнинский институт атомной энергетики – филиал Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ», Обнинск, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки – Институт синтетических полимерных материалов им. Н.С. Ениколопова РАН, Москва, Россия

e-mail: ek-koryakina@mrrc.obninsk.ru

Резюме. Исследованы цитотоксичность соединений борной кислоты в комплексе с гидроксипропилцеллюлозой или гиалуроновой кислотой для опухолевых клеток китайского хомячка и эффективность их применения при последующем воздействии протонов и γ -излучения. Установлена максимальная концентрация соединений, не вызывающая цитотоксического эффекта для клеток. Показано, что предварительная инкубация клеток с исследуемыми соединениями приводит к большему повреждающему действию излучений.

Ключевые слова: бор, протоны, γ -излучение, жизнеспособность опухолевых клеток, гидроксипропилцеллюлоза, гиалуроновая кислота

VIABILITY OF CHINESE HAMSTER TUMOR CELLS AFTER IRRADIATION IN THE PRESENCE OF BORON COMPOUNDS

*Е.В. Корякина¹, У.М. Корнеева², М.В. Трошина¹, А.А. Пичкунова¹,
С.Н. Корякин^{1,2}, С.А. Успенский³*

¹ A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

² National Research Nuclear University MEPhI Obninsk Institute for Nuclear Power Engineering, Obninsk, Russia

³ Enikolopov Institute of Synthetic Polymeric Materials of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

e-mail: ek-koryakina@mrrc.obninsk.ru

Summary. The cytotoxicity of boric acid preparations in combination with hydroxyethylcellulose or hyaluronic acid for Chinese hamster tumor cells and the effectiveness of their use upon subsequent exposure to protons and γ -radiation were studied. The maximum concentration of ^{11}B has been established, which does not cause a cytotoxic action on cells. It has been shown that pre-incubation of cells with the studied compounds leads to a greater damaging effect of radiation.

Key words: boron, protons, γ -radiation, viability of tumor cells, hydroxyethylcellulose, hyaluronic acid

Протонная терапия является одним из наиболее быстро развивающихся методов адронной терапии. Однако протоны представляют собой излучение с низкими величинами линейной передачи энергии (ЛПЭ) и принятой клинической ОБЭ, равной 1,1. Такая достаточно низкая биологическая эффективность ограничивает применение протонов, особенно в случае радиорезистентных опухолей. Актуальным способом повышения эффективности протонного воздействия являются технологии бинарной лучевой терапии, основанные на использовании различных лекарств и/или других агентов для радиосенсибилизации эффекта основного излучения.

Перспективным вариантом радиосенсибилизации лучевой терапии, помимо применения соединений металлов с высоким атомным номером ($Z > 52$), считается использование ядерных реакций захвата с образованием вторичных короткопробежных частиц с высокими ЛПЭ путем введения в биологическую мишень элементов с большим сечением поглощения излучения, чем у мишени. В частности, повышается интерес к реакции бор-протонного синтеза, обосновывающей идею протон-захватной терапии бором (на атомах ^{11}B), особенно после успешного применения в клинической практике борнейтрон-захватной терапии. При этом разрабатываются как новые формы борсодержащих соединений, так и способы доставки и избирательного накопления бора в опухоли. Так, в настоящее время активно исследуют биологическую эффективность применения наночастиц бора [1]. Однако биораспределение этих наночастиц все еще несовершенно из-за сложных реакций организма на наноматериалы и сложности воздействия на определенные органы. Тем не менее, еще продолжается большая работа по оптимизации и лучшему пониманию потенциала и ограничений систем наночастиц. Альтернативой наночастицам могут служить традиционные доставщики бора преимущественно на основе молекулярной формы, например, в виде борных кислот, которые находятся в ковалентном или нековалентном связывании с биологически активными биомолекулами или их синтетическими аналогами. Такой подход с одной стороны, способствует повышению растворимости, биологической доступности и таргетности борсодержащих соединений, с другой, – позволяет быстро получить большие концентрации бора в водном растворе.

Цель настоящей работы состояла в изучении влияния соединений борной кислоты с гидроксигидроксиэтилцеллюлозой и гиалуроновой кислотой на жизнеспособность опухолевых клеток китайского хомячка при действии протонов и γ -излучения.

Исследовали следующие соединения: 4% раствор борной кислоты (БК; концентрация $^{11}\text{B} - 7096 \text{ ppm}$), 0,1% раствор гидроксигидроксиэтилцеллюлозы (ГЭЦ), 0,1% раствор гиалуроновой кислоты (ГК), ГЭЦ (0,1%) + БК (4%), ГК (0,1%) + БК (4%). На первом этапе работы оценивали цитотоксичность этих препаратов с целью определения максимальной возможной нетоксичной концентрации для клеток. Использовали клетки китайского хомячка линии В14-150 (фибросаркома) в логарифмической фазе роста культуры. В экспериментах с действием ионизирующей радиации клетки с исследуемыми веществами инкубировали при 37°C и 5% CO_2 в течение 20 ч. Непосредственно перед облучением содержащую препараты борной кислоты среду удаляли, клетки переводили в суспензии ($\sim 30\,000$ кл/мл) и помещали в пробирки типа Эппендорф (5 мл).

Облучение протонами на Комплексе протонной терапии «Прометеус» (АО «ПРОТОМ») проводили в расширенном пике Брэгга (30 мм, 88,1–108,7 МэВ), в водном фантоме, в специальном держателе. Опыты с воздействием γ -излучения ($E_{\text{ср}} = 1,25 \text{ МэВ}$) проводили на установке «Рокус-АМ» с источником ^{60}Co при мощности дозы около 0,6 Гр/мин. При этом клетки с предварительной инкубацией с веществами и без облучали одновременно в диапазоне доз протонов и γ -излучения 0,5–10 Гр. Жизнеспособность клеток оценивали по их клоногенной активности (выживаемость, метод макроколоний).

Исследования цитотоксического действия изученных борсодержащих соединений показали, что применение растворов БК и ГК оказывает на клетки В14-150 выраженное стимулирующее действие, инкубация с раствором ГЭЦ не влияет на выживаемость клеток. При использовании растворов ГЭЦ + БК и ГК + БК с увеличением концентрации ^{11}B в диапазоне $\approx 100\text{--}500 \text{ ppm}$ выживаемость клеток не отличалась от контрольного уровня. Максимальная концентрация ^{11}B , при которой не проявлялся цитотоксический эффект, составила 425,76 ppm. При этом продолжительность инкубации клеток в питательной среде с такой концентрацией ^{11}B во временном диапазоне 14–24 ч не оказывала заметного влияния на их выживаемость.

При сравнительном изучении эффективности протонного воздействия было установлено, что предварительная инкубация опухолевых клеток с борсодержащими

соединениями ГЭЦ + БК и ГК + БК усиливает биологический эффект протонов. Аналогичные результаты получены и при действии стандартного γ -излучения ^{60}Co : выживаемость клеток В14-150 после облучения в присутствии ^{11}B снижалась, различия значимы ($p < 0,05$). Установленные закономерности подтверждают, что эффект присутствия борсодержащих соединений в клетках во время облучения протонами обусловлен не протон-захватными событиями на атомах ^{11}B , а проявлением радиосенсибилизирующих свойств, связанных, например, с дополнительным образованием активных форм кислорода.

1. Успенский, С. А., Хаптаханова, П. А. Наночастицы бора в химио- и радиотерапии: синтез, современное состояние и перспективы // Известия АН. Серия химическая – 2022. – № 12. – С. 2533-2560.

ПРОФИЛАКТИКА ОСЛОЖНЕНИЙ ФРАКЦИОНИРОВАННОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ НОВООБРАЗОВАНИЙ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ *IN VIVO*

A.O. Kosachenko, V.A. Rybachuk, K.A. Nikolaev, L.I. Shevchenko, O.V. Soldatova, A.A. Shitova, S.N. Koryakin, A.S. Filimonov, M.V. Filimonova

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ НМИЦ радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия
e-mail: br.shepard@list.ru

Резюме. Проведена серия экспериментов на самках мышей по оценке эффективности применения ингибиторов NO-синтаз для профилактики осложнений лучевой терапии органов малого таза. Исследование влияния R301 на течение радиационно-индуцированного цистита у мышей показало, что соединение обладает радиозащитными свойствами и смягчает последствия локального облучения, нивелируя значительную часть повреждений, вызванных действием β -излучения, как на ранних, так и на поздних сроках течения патологии. Результаты исследований свидетельствуют о высокой перспективности соединения R301 в качестве средства профилактики осложнений при лучевой терапии злокачественных новообразований органов малого таза.

Ключевые слова: ингибиторы NO-синтаз, радиопротекторы, осложнения радиотерапии, средства профилактики

PREVENTION OF NEW BLADDER COMPLICATED BY FRACTIONED RADIATION THERAPY IN *IN VIVO* EXPERIMENTAL STUDIES

A.O. Kosachenko, V.A. Rybachuk, K.A. Nikolaev, L.I. Shevchenko, O.V. Soldatova, A.A. Shitova, S.N. Koryakin, A.S. Filimonov, M.V. Filimonova

A. Tsyb Medical Radiological Research Center – Branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia,
e-mail: br.shepard@list.ru

Summary. A series of experiments was carried out on female mice to evaluate the effectiveness of the use of NO synthase inhibitors for the prevention of complications of radiation therapy of the pelvic organs. A study of the effect of R301 on the course of radiation-induced cystitis in mice showed that the compound has radioprotective properties and mitigates the effects of local irradiation, neutralizing a significant part of the damage caused by the action of β -radiation, both in the early and late stages of the pathology. The research results indicate the high promise of compound R301 as a means of preventing complications during radiation therapy for malignant neoplasms of the pelvic organs.

Key words: NO synthase inhibitors, radioprotectors, radiotherapy complications, prophylactic agents

Лучевая терапия органов малого таза может сопровождаться развитием лучевых реакций и осложнений со стороны мочевого пузыря – лучевого цистита. Существующие средства и подходы к профилактике развития данных осложнений несовершенны, в связи с чем, актуальна разработка новых способов предупреждения развития лучевых реакций со стороны органов малого таза.

В лаборатории радиационной фармакологии МРНЦ им. А.Ф. Цыба синтезируются и исследуются соединения – ингибиторы NO-синтаз, потенциально способные селективно защищать здоровые ткани от воздействия ионизирующего излучения. В раннее проведенных исследованиях нами показана высокая перспективность применения ингибиторов NO-синтаз в качестве средств профилактики развития осложнений лучевой терапии. В настоящее время исследования в этом направлении продолжаются.

Целью работы являлась оценка эффективности нового ингибитора NO-синтаза под условным шифром R301 в качестве средства профилактики лучевых цистита и ректита у мышей и крыс.

Объектом для исследования являлись мыши линии C57Bl/6j, отличающейся высокой чувствительностью тканей мочевого пузыря к повреждающему действию ионизирующих излучений. На начальном этапе эксперимента две группы мышей были подвергнуты локальному фракционированному воздействию β -излучения на область мочевого пузыря в суммарной дозе 30 Гр – 5 фракций по 6 Гр с интервалом 48 часов. При этом животным второй группы перед каждой фракцией облучения вводили однократно, внутривенно соединение R301 в дозе 1/10 ЛД₁₀.

Данные физиологических урострических исследований свидетельствовали, что фракционированное воздействие β -излучения в дозе 30 Гр вызвало у мышей развитие значимых функциональных нарушений в мочевыделительной системе. В функциональных исследованиях прослеживался отчетливый профилактический радиозащитный эффект соединения R301.

При макроскопическом осмотре мочевых пузырей через 4 недели после фракционированного облучения у мышей группы «контроль облучения» визуализировалась неравномерность толщины стенки органа, наличие бессосудистых областей, а также точечные кровоизлияния. В то же время у облученных животных, получавших перед каждой фракцией в/ж инъекции R301, признаки развития патологии были выражены значительно слабее, мочевые пузыри визуально не отличались от органов интактных животных.

В слизистой оболочке мочевого пузыря облученных мышей гистологические признаки лучевой алтерации и острого цистита у R301-леченых мышей были выражены существенно слабее, чем у облученного контроля.

При макроскопическом осмотре мочевых пузырей через 8 недель после облучения у большинства облученных мышей наблюдалась значительная деформация органа, а сосудистая сеть визуализировалась слабо. В то же время у облученных животных, получавших перед каждой фракцией в/ж инъекции R301, признаки развития патологии были выражены значительно слабее, мочевые пузыри визуально не отличались от органов интактных животных.

При гистологическом исследовании у этих мышей в стенке мочевого пузыря наблюдались патологические изменения, характерные для позднего лучевого цистита с признаками активного фиброза. Проявления радиозащитного действия соединения R301 отчетливо прослеживались у R301-леченых мышей и на 8 неделе. Эпителиальный слой слизистой мочевого пузыря у этих животных был полностью

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о высокой перспективности соединения R301 в качестве средства профилактики осложнений при лучевой терапии злокачественных новообразований органов малого таза.

ВЛИЯНИЕ ПУТИ ПОСТУПЛЕНИЯ ЦИСТАМИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ЕГО ФАРМАКОКИНЕТИКИ

С.Ю. Краев, И.С. Драчев, А.Б. Селезнев, Д.В. Цой, О.И. Алешина

Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины
Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
e-mail: gniiivm_2@mil.com

Резюме. Проведено изучение фармакокинетики цистамина при внутривенном, внутрибрюшинном и эндотрахеальном путях введения крысам. Установлено, что цистамин быстро проникал из места введения в системный кровоток и распределялся по органам и тканям. Цистамин при внутривенном и эндотрахеальном введении показал схожий фармакокинетический профиль. Однако при сопоставимых значениях константы элиминации 0,41, 0,43 и 0,40 ч⁻¹ для внутривенного, эндотрахеального и внутрибрюшинного путей введения соответственно, среднее время удерживания цистамина в тест-ткани при эндотрахеальном введении было в 2,5 раза меньше, чем при внутривенном введении и в 3,8 раза меньше, чем при внутрибрюшинном. Биодоступность цистамина при эндотрахеальном введении составила 67,8 %, а при внутрибрюшинном введении – 27,8 %.

Ключевые слова: цистамин, меркаптоэтиламин, эндотрахеальное введение, фармакокинетика, биодоступность.

INFLUENCE OF THE ROUTE OF ADMINISTRATION OF CYSTAMINE ON ITS PHARMACOKINETICS.

S.Yu. Kraev, I.S. Drachev, A.B. Seleznev, D.V. Tsoy, O.I. Aleshina

State Research and Testing Institute of Military Medicine of Ministry of Defense of
Russian Federation, Saint Petersburg, Russia,
e-mail: gniiivm_2@mil.com

Summary. The pharmacokinetics of cystamine was studied by endotracheal, intravenous and intraperitoneal route administration. It has been established that cystamine quickly penetrates from injection site into the systemic circulation and is distributed throughout tissues and organs. Cystamine when administered intravenous and endotracheally has a similar pharmacokinetic profile. However, with comparable values of the elimination constant of 0,41, 0,43 and 0,40 h⁻¹ for the intravenous, endotracheal and intraperitoneal administration, respectively, the average retention time of cystamine in the test tissue with endotracheal administration was 2,5 times less than with intravenous administration and 3,8 times less than with intraperitoneal. The bioavailability of the drug with endotracheal administration was 67,8 % and with intraperitoneal administration – 27,8 %.

Key words: cystamine, mercaptoethylamine, endotracheal administration, pharmacokinetics, bioavailability.

Цистамин, радиопротектор из группы аминотиолов, представляет собой удвоенную молекулу меркамина, где сульфгидрильные группы соединены дисульфидной связью. С химической точки зрения цистамин является сильным восстановителем, способным перехватывать и инактивировать образующиеся при воздействии ионизирующих излучений свободные радикалы, прерывать реакции перекисного окисления. Препарат способен распределяться в субклеточных структурах и реализовывать свое действие за счет способности ингибировать трансглутаминазы внутри клеток, придавая им устойчивость по отношению к ионизирующему излучению за счет образования дисульфидной связи с серосодержащими белками.

Целью исследования явилось экспериментальное сравнение фармакокинетики цистамина при внутрибрюшинном, внутривенном и эндотрахеальном введении.

Эксперименты выполнены на 308 нелинейных белых крысах самцах, массой 200-250 г. В работе использовали субстанцию цистамина гидрохлорида, которую вводили внутривенно, эндотрахеально или внутривенно. Эндотрахеальное введение цистамина проводили методом эндотрахеальной инстиляции при помощи зонда MicroSprayer IA-2B (Penn Century, США). Средний размер частиц, генерируемых при помощи сопла зонда, составлял $20,0 \pm 0,2$ мкм.

Для фармакокинетических исследований забор крови осуществляли путем декапитации животных через 1, 5, 15, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 360 мин и 24 ч после введения цистамина. Качественный и количественный анализ проводили на жидкостном хроматографе «Dionex Ultimate 3000» с масс-спектрометрическим детектированием. Фармакокинетические параметры цистамина рассчитывали по количественным значениям его метаболита – меркаптоэтилами́на (МЭА) в плазме крови. Для количественного определения МЭА использовали данные масс-хроматограмм, полученные в режиме Full Scan MS по выбранному иону – 203,0849 m/z. Статистическую обработку данных осуществляли общепринятыми методами.

Установлено, что в организме животных цистамин практически мгновенно метаболизируется до меркаптоэтилами́на (МЭА), который быстро проникал из места введения в системный кровоток и распределялся по органам и тканям.

При внутривенном введении радиопротектора кинетика МЭА характеризовалась наличием периодов всасывания (α -фаза), распределения (β -фаза) и длительным периодом выведения. Динамика концентраций МЭА в плазме крови при внутривенном и эндотрахеальном введении также характеризуется наличием α - и β -фаз. В α -фазе, которую регистрировали в течение 30 мин с момента введения, наблюдали резкое снижение концентрации МЭА в плазме крови, за счет его быстрого распределения в тканях организма. Вторая фаза — выведения, характеризовалась медленным снижением концентраций МЭА в плазме крови в период от 0,5 до 25 ч. Остаточные концентрации исследуемого соединения через 24 ч после введения находились ниже предела количественного определения аналитической методики.

Несмотря на схожий профиль фармакокинетических кривых МЭА при внутривенном и эндотрахеальном введении цистамина, его внутривенное введение характеризовалось большим значением максимальной концентрации (C_{max}), а кривая при эндотрахеальном пути введения имела период повторного повышения концентрации на 15 мин. Максимальную концентрацию МЭА в плазме крови при эндотрахеальном введении определяли через 1 мин, что составляло 7762,5 нг/мл. Через 1 ч после введения количественное содержание МЭА в плазме крови составляло 83,4 нг/мл, через 2 ч — 39,4 нг/мл, а к 24 ч следовые количества метаболита были ниже предела количественного определения аналитической методики. Среднее время удерживания МЭА в тест-ткани составляло 0,43 ч, а период полувыведения — 1,6 ч.

При внутривенном введении цистамина в дозе 10 мг/кг динамика распределения МЭА в крови также имела периоды всасывания (5-10 мин), распределения (10-30 мин) и элиминации (0,5-24 ч). Максимальную концентрацию МЭА в плазме крови крыс регистрировали через 5 мин на уровне 1095,7 нг/мл, к двум часам после введения концентрация метаболита составляла 59,6 нг/мл, через 3 ч — 42,7 нг/мл, к 24 ч после введения регистрировали следовые количества ниже уровня количественного определения методики.

Таким образом, цистамин при эндотрахеальном введении быстро всасывается в системный кровоток, а затем постепенно элиминирует из организма. Схожие значения фармакокинетических параметров ($T_{1/2}$, Cl , k_{el}) МЭА при внутривенном и эндотрахеальном введении радиопротектора указывают на схожесть фармакодинамики цистамина в организме животных. Однако при сопоставимых значениях константы элиминации 0,41, 0,43 и 0,40 ч⁻¹ для внутривенного, эндотрахеального и внутривенного путей введения соответственно, среднее время удерживания цистамина в тест-ткани при эндотрахеальном

введении было в 2,5 раза меньше, чем при внутривенном введении и в 3,8 раза меньше, чем при внутрибрюшинном, что может свидетельствовать о необходимости повторного введения цистамина в случае эндотрахеального применения для сохранения радиозащитной эффективности. Низкое, по сравнению с внутривенным и внутрибрюшинным введением, значение стационарного объема распределения при эндотрахеальном введении, который в 6 раз меньше, чем при внутрибрюшинном введении, свидетельствует о том, что при эндотрахеальном поступлении цистамина не накапливается в тканях организма, что может снизить его радиопротекторный эффект.

**НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НАРУШЕНИЙ МЕТАБОЛИЗМА
МОНОАМИНОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ ГРЫЗУНОВ ВСЛЕДСТВИЕ
КОМБИНИРОВАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ МОДЕЛЬНЫХ ФАКТОРОВ
КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЕТА**

О.С. Кузнецова¹, П.Л. Наплекова^{1,2}, К.В. Лебедева-Георгиевская¹, А.С. Штемберг¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр РФ – Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, Россия

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия
e-mail: oskuznetsova@imbp.ru

Резюме. Воздействие модельных факторов космического полета - тяжелых ионов и модельной гипогравитации - приводит к нарушениям работы ЦНС грызунов, сохраняющимся в течение длительного времени. Основной реакцией систем мозга являются нарушения в дофаминергической системе, играющей ключевую роль в обучении. Понимание нейрохимических изменений в различных структурах головного мозга животных, вызванных указанными факторами, дает возможность для дальнейшей разработки их эффективной фармакологической коррекции.

Ключевые слова: радиация, нейрохимия, грызуны, головной мозг

**NEUROCHEMICAL STUDIES OF METABOLIC DISORDERS OF
MONOAMINES IN THE BRAIN OF RODENTS DUE TO THE COMBINED EFFECTS
OF MODEL FACTORS OF SPACE FLIGHT**

O.S. Kuznetsova¹, P.L. Naplekova^{1,2}, K.V. Lebedeva-Georgievskaya¹, A.S. Shtemberg¹

¹Institute of Biomedical Problems RAS, Moscow, Russia

²Institute of Pharmacology, Moscow, Russia

e-mail: oskuznetsova@imbp.ru

Summary. Exposure to model factors of space flight, such as heavy ions and model hypogravity, causes disturbances in the central nervous system of rodents that persist for a long time. The main reaction of brain systems is change in the dopaminergic system, which plays a key role in learning. Understanding the neurochemical changes in various structures of the animal brain, caused by abovementioned factors, opens pathway to development of an efficient pharmacological correction.

Key words: radiation, neurochemistry, rodents, brain.

Радиационный барьер является одной из основных проблем при подготовке межпланетных миссий. Нарушения работы центральной нервной системы, вызванные тяжелыми ионами высоких энергий, способны крайне негативно сказываться на операторской деятельности космонавтов. Помимо того, действие нерадикационных факторов космического полета, в первую очередь микрогравитации, способно усиливать развитие указанной патологии. Ранее в эксперименте были исследованы различные нейробиологические эффекты комбинированного действия антиорто статического вывешивания (АнОВ; общепринятая экспериментальная наземная модель невесомости для мелких лабораторных животных) и разных видов ионизирующих излучений. Однако нейрохимические механизмы наблюдаемых эффектов до сих пор недостаточно изучены. Поэтому целью данной работы ставилось исследование нарушения функционирования дофаминергической системы в результате воздействия тяжелых ионов и модельной гипогравитации.

Эксперименты выполнены на крысах-самцах линии Long-Evans массой 150–180 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и корму. В качестве факторов дальнего космического полета были использованы 7-суточное

АнОВ синхронно с γ -излучением, а на 8-е сутки – отдельно воздействие тяжелых ионов. Моделирование АнОВ производили в индивидуальных металлических секциях, объединенных в трёхъярусный стеллаж. Животных вывешивали за основание хвоста под углом 30–40° с расчетом снятия статической нагрузки с задних конечностей, так, чтобы при этом они могли свободно перемещаться в пределах секции. Также проводили хроническое облучение в течение всех 7 суток вывешивания (установка ГОБО-60 с источником ^{137}Cs ; доза γ -облучения 1,2 Гр). Затем производили однократное облучение головы крыс ионами углерода ^{12}C с энергией 455 МэВ/н в дозе 0,8 Гр (ускоритель У-70; Институт физики высоких энергий имени А.А.Логанова Национального исследовательского центра Курчатовский институт, Протвино). Влияние описанных факторов космического полета на поведенческие реакции оценивали в тестах «Открытое поле», «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Водный лабиринт Морриса» и Y-образный лабиринт (выработка дифференцировочного условного рефлекса активного избегания; УРАИ).

По окончании данного этапа проводили нейрохимические исследования. У животных выделяли префронтальную кору, гиппокамп, гипоталамус и таламус. Выделенные структуры гомогенизировали в 0,1 Н растворе HClO_4 с добавлением в качестве внутреннего стандарта 3,4-диоксибензиламина (0,5 нмоль/мл), центрифугировали и полученный супернатант использовали в дальнейшем для определения концентрации нейромедиаторных аминокислот, моноаминов и их метаболитов. Концентрацию веществ определяли с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ионная хроматография) с электрохимической детекцией на хроматографе LC-304T (BAS, WestLafayette, США) с инжектором Rheodyne 7125. Определяли содержание нейромедиаторных аминокислот – гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), глицина, таурина, глутамата и аспартата, а также норадrenalина, дофамина (ДА) и его метаболитов – 3,4-диоксифенилуксусной (ДОФУК) и гомованилиновой кислот, 3-метокситирамина, серотонина (5-гидрокситриптамин; 5-НТ) и его метаболита – 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК).

Статистическую обработку результатов поведенческих экспериментов проводили с помощью программ IBM SPSS и MS Excel, используя для определения значимости различий параметрический (t-критерий Стьюдента) и непараметрические (критерий Уилкоксона) методы статистики. Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Полученные результаты нейрохимических исследований анализировали с помощью t-теста Левена, односторонней ANOVA и post hoc теста Дункана.

Проведение экспериментов одобрено комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН (протокол № 600 от 07.10.2021 г.).

Было установлено, что в тесте «Открытое поле» животные демонстрировали признаки повышения тревожности, а в приподнятом крестообразном лабиринте тревожность наблюдалась даже через 1 месяц после экспериментальных воздействий. В Y-образном лабиринте на протяжении 4 месяцев исследования лучшие показатели выявлены у облученных крыс по сравнению с контрольными, однако впоследствии была обнаружена частичная утрата выработанного УРАИ. Схожие результаты были получены и в тесте «Водный лабиринт Морриса».

В нейрохимических исследованиях было выявлено, что облучение существенно не влияло на содержание тормозных (ГАМК, глицин и таурин) и возбуждающих (аспартат и глутамат) нейромедиаторных аминокислот ни в одной из изученных структур головного мозга крыс. При этом у облученных животных наблюдалось увеличение содержания ДА в гипоталамусе и таламусе, а также активация метаболизма ДА (увеличение соотношения ДОФУК/ДА) и 5-НТ (увеличение уровня 5-ОИУК и соотношения 5-ОИУК/5-НТ). Изменения уровня моноаминов в префронтальной коре были менее выражены, а в гиппокампе значимых различий выявлено не было.

Таким образом, можно заключить, что воздействие тяжелых ионов и модельной гипогравитации приводит у крыс к повышению тревожности и снижению способности к обучению, сохраняющимся в течение длительного времени после экспериментальных воздействий. Основной реакцией моноаминергических систем на действие указанных факторов явилось нарушение функционирования дофаминергической системы, играющей одну из основных ролей в процессе обучения. Понимание нейрхимических изменений в различных структурах головного мозга животных, вызванных модельными факторами космического полета, дает возможность для дальнейшей разработки их эффективной фармакологической коррекции.

СПОСОБ КОМПЕНСАЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ РАДИАЦИОННОГО ПОРАЖЕНИЯ ОРГАНИЗМА МЛЕКОПИТАЮЩИХ

A.V. Kulikov¹, A.A. Glazkov², V.B. Gavriljuk¹, L.V. Arkhipova¹, D.A. Kulikov^{3,4}

¹ Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук,
Пушино, Россия

² Московский областной научно-исследовательский клинический институт
им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия

³ Государственный университет просвещения, Мытищи, Россия

⁴ Национальный научно-исследовательский институт общественного здоровья
им. Н.А. Семашко, Москва, Россия
e-mail: 29.04.55@mail.ru

Резюме. В экспериментах на мышах удалось добиться долговременной (более 3 месяцев) 44% выживаемости животных после их облучения в заведомо летальной дозе 6 Гр. В то время как в контрольной группе (облучение без трансплантации тимуса) все животные погибли на сроках от 9 до 28 дней. Результат был получен с помощью модуляции иммунного статуса организма алло-трансплантацией ткани тимуса молодых животных. Вес, потребление воды и пищи в контрольных и опытных группах хорошо коррелировали с выживаемостью животных.

Ключевые слова: радиационное облучение, ткань тимуса, алло-трансплантация, летальность, выживаемость.

A METHOD OF COMPENSATION FOR THE EFFECTS OF RADIATION DAMAGE TO THE MAMMALIAN BODY

A.V. Kulikov¹, A.A. Glazkov², V.B. Gavriljuk¹, L.V. Arkhipova¹, D.A. Kulikov^{3,4}

¹ Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of the Russian Academy of Sciences,
Pushchino, Russia

² Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute, Moscow, Russia

³ State University of Education, Mytishchi, Russia

⁴ Semashko National Research Institute of Public Health, Moscow, Russia
e-mail: 29.04.55@mail.ru

Abstract. In experiments on mice, it was possible to achieve long-term (more than 3 months) 44% survival of animals after irradiation at a known lethal dose of 6 Gy. At the same time, all animals in the control group (irradiation without thymus transplantation) died within the period from 9 to 28 days. The result was obtained by modulation of the immune status of the body by allotransplantation of the thymus tissue from young animals. Weight, water and food intake in control and experimental groups correlated well with the survival of animals.

Key words: irradiation, thymus tissue, allotransplantation, lethality, survival

В связи с кратно увеличившейся вероятностью использования «грязной бомбы» в современных военных конфликтах, проблема защита человека от радиационного поражения выходит в ряд очень актуальных и важных задач современной биомедицины. Опыты на грызунах являются обязательной частью исследований перед их внедрением в клиническую практику. Они позволяют определить «болевые» точки ускоренного старения организма в результате радиационного поражения и пути воздействия на этот процесс.

Целью работы является разработка способов компенсации последствий радиационного поражения организма млекопитающих. В перспективе можно адаптировать разработанные методы для защиты военнослужащих и гражданского населения при применении «грязной бомбы», эпри авариях на атомных станциях и быстрой адаптации организма при радиотерапии.

Лабораторные животные были получены из вивария ИТЭБ РАН, г. Пушкино. В модели ускоренного радиационного старения были использованы мыши линии kv:SHK, самцы. Облучение животных проводили на терапевтическом рентгеновской установке РУТ-15 («Мосрентген», Россия). Суммарная доза 6 Гр.

В первую серию экспериментов взяли 3 группы мышей:

- 1-я – контроль (после облучения в дозе 6 Гр без трансплантации);
- 2-я - трансплантация тимуса после облучения в дозе 6 Гр;
- 3-я – контроль (трансплантация легкого после облучения в дозе 6 Гр).

Во вторую серию экспериментов взяли 2 группы:

- 1-я – контроль (после облучения в дозе 6 Гр без трансплантации);
- 2-я - трансплантация тимуса после облучения в дозе 6 Гр

Трансплантацию ткани тимуса и легкого проводили под эфирным наркозом. Подкожно в предварительно сформированный карман между лопатками помещали трансплантат массой 30-35 мг и затем разрез фиксировали медицинским клеем. В контрольных группах без трансплантации тканей также формировали подкожный карман, который фиксировали медицинским клеем. Первая серия отличается от второй тем, что в ней мы трансплантировали гомогенат ткани тимуса через 4 дня, полагая, что к этому времени под воздействием радиационного облучения предельно снизится количество иммунокомпетентных клеток, что позволит трансплантированной ткани дольше функционировать. Опыт показал, что отрицательные последствия облучения более значимы, чем положительные последствия снижения количества лейкоцитов, способствующих отторжению трансплантата. Поэтому во второй серии мы проводили трансплантацию кусочков ткани тимуса уже через 24 часа после облучения. Кроме того, в первой серии в качестве трансплантата после облучения использовали ткань легкого (30-35 мг). Это был второй контроль, призванный показать, что только иммунокомпетентная ткань тимуса способна в данной ситуации дать положительный результат.

Донорами тимуса служили мыши средней массой 12 г. Донорами легкого мыши средней массой 25 г. Всего в работе использовано 69 животных, из которых 24 донора. В течение эксперимента фиксировали динамику веса, потребление воды, корма и смертность животных.

Статистический анализ выполняли с помощью языка R версии 4.2.2 в программе RStudio 2022.07.2 (RStudio, PBC).

Результаты и выводы.

Представлены материалы по двум новым способам алло-трансплантации тимуса мышам, подвергшимся действию летальной дозы радиационного облучения (6Гр). Первый способ, алло-трансплантация гомогената тимуса от молодых доноров через 4 дня после облучения, дал по выживаемости результат, очень близкий к значимому ($p = 0.053$, лог-ранк тест). А второй способ, аллотрансплантация ткани тимуса через 24 часа, статистически значимо ($p = 0.033$, лог-ранк тест) увеличивает долговременную выживаемость мышей после летального облучения.

К окончанию эксперимента, на 92-ый день после облучения, в опытной группе были живы 44% мышей. В то время как в контрольной группе (облучение без трансплантации тимуса) все животные погибли на сроках от 9 до 28 дней. Между выживаемостью животных в двух группах выявлены статистически значимые различия ($p = 0.033$, лог-ранк тест). Вес, потребление воды и пищи в контрольных и опытных группах хорошо коррелировали с выживаемостью животных.

Разработаны методы, позволяющие увеличить выживаемость животных даже после заведомо летального облучения.

**ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ГАЗОВЫДЕЛЕНИЯ ПОЛИМЕРНЫМИ
КОМПОЗИЦИОННЫМИ МАТЕРИАЛАМИ С ТЕРМОРЕАКТИВНЫМИ И
ТЕРМОПЛАСТИЧНЫМИ СВЯЗУЮЩИМИ, ДЕСТАБИЛИЗИРОВАННЫМИ
ГАММА-ОБЛУЧЕНИЕМ**

П.В. Лашуков¹, Л.Н. Мухамедиева¹

¹Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН (ГНЦ РФ – ИМБП РАН), Москва
e-mail: lashukov@imbp.ru

Резюме. Методом хромато-масс-спектрометрии исследована динамика летучих органических соединений в составе газовой выделения терморезактивными и термопластичными полимерными композиционными материалами (ПКМ) с экспериментальными связующими (эпоксидное, полиимидное, фталонитрильное, фенолтриазинное, полиэфирэфиркетонное), как показатель радиационно-химических превращений в полимерных композитных материалах, характеризующий изменение их химического состава и свойств при деструкции. Показано, что фракционированное гамма-облучение в суммарной дозе (500 сГр.) при изменении количественного и сохранении качественного состава газовой выделения приводит к немономонному уменьшению газовой выделения изученных ПКМ, характерному для протекания разнонаправленных основных процессов: окислительная деструкция полимерных цепей молекул и их сшивание. Снижение суммарного газовой выделения при радиолитизе характерно для преобладания процессов сшивания полимерных цепей, и обусловлено высокой молекулярной массой ПКМ полимера, сравнительно медленным протеканием реакций разрыва С—С-связи. Однако детектирование и компонентов характерных для химического состава связующих, свидетельствует о протекании одновременно радикального окислительного, процесса низкомолекулярных углеводородов, на ранней стадии деструкции композитных полимеров и зависит от вида связующего.

Ключевые слова: полимерные композиционные материалы, газовой выделение, гамма-облучение, масс-спектрометрия

**CHEMICAL COMPOSITION OF OUTGASSING FROM POLYMER-COMPOSITE
MATERIALS WITH THERMOSETTING AND THERMOPLASTIC-BASED BINDERS,
DESTABILIZED BY GAMMA IRRADIATION**

P.V. Lashukov¹, L.N. Moukhamedieva¹

¹Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow
e-mail: lashukov@imbp.ru

Summary. Using gas chromatography-mass spectrometry, the dynamics of volatile organic compounds in outgassing of thermosetting and thermoplastic polymer composite materials (PCMs) with experimental binders (epoxy, polyimide, phthalonitrile, phenoltriazine, polyetheretherketone) was studied as an indicator of radiation-chemical transformations in polymer composite materials, characterizing their change chemical composition and properties during destruction. It has been shown that fractionated gamma irradiation in a total dose (500 cGy), while changing the quantitative and maintaining the qualitative composition of the gas emission, leads to a non-monotonic decrease in the gas emission of the studied PCMs, characteristic of the occurrence of multidirectional main processes: oxidative destruction of polymer chains of molecules and their cross-linking. A decrease in the total gas release during radiolysis is characteristic of the predominance of cross-linking processes of polymer chains, and is due to the high molecular weight of the PCM polymer and the relatively slow occurrence of C-C bond cleavage reactions. However, the detection of components characteristic of the chemical composition of binders indicates the occurrence of a simultaneous radical oxidative process of

low molecular weight hydrocarbons at an early stage of destruction of composite polymers and depends on the type of binder.

Key words: polymer composite materials, gas evolution, gamma irradiation mass spectrometry

В обитаемых отсеках (модулях) космических аппаратов полимерные конструкционные и композитные материалы подвергаются воздействию комплекса негативных микроклиматических факторов (кислород, озон, влага, температура), сложного химического состава воздушной среды, физических факторов: ионизирующего излучения в диапазоне воздействующих мощностей доз, шум, вибрация и эксплуатационных механических нагрузок. Одним из основных деструктурирующих факторов, является ионизирующее излучение, приводящее к радиационно-химическим превращениям полимеров с образованием новых химических связей между макромолекулами – «сшивание полимеров» и разрыв связей основной цепи (радикальное окисление) с образованием молекул меньшей длины. Процессы протекают чаще одновременно или независимо и приводят к изменению состава газовой выделения, характеризуя процесс деструкции (старения). Конечные продукты деполимеризации мигрируют с поверхности полимера в виде мономеров, димеров или смеси низкомолекулярных соединений различного химического состава.

Санитарно-химические испытания полимерных композиционных материалов на углеродной основе с экспериментальными связующими проводились до и после внешнего фракционного гамма облучения в суммарной дозе 500 сГр. в диапазоне расчетной дозы для обитаемых модулей космических аппаратов при осуществлении межпланетных полетов. Облучение проводилось 2 раза в неделю по 16 часов на стендовой базе Государственного научного центра РФ Институт медико-биологических проблем РАН (ГНЦ РФ - ИМБП РАН).

Анализ, идентификация и концентрации летучих органических соединений (ЛОС) в пробах проводилась методами газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектором (ГХ-ПИД), хромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС), в соответствии с ГОСТ Р ИСО 16000-6-2016, высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), в соответствии с ГОСТ Р ИСО 16000-3-2016.

В исходном газовой выделении, идентифицированные вещества были представлены мономерами, мигрирующими с поверхности полимерных композитных материалов (ПКМ), продуктами неполной полимеризации, инициаторов, наполнителей и были представлены следующими классами соединений: альдегиды, кетоны, спирты, ароматические соединения, силоксаны, эфиры, фталаты, азотсодержащие соединения, хлорсодержащие соединения.

Моделирование радиационного воздействия, в сравнительно низкой дозе сопровождалось значимым уменьшением суммарного газовой выделения углепластиков с эпоксидным, полиимидным и фталонитрильным связующими (уменьшением в 3,9, 5,1, 2,5 раза соответственно), а также тенденцией к уменьшению суммарного газовой выделения углепластиком с фенолтриазиновым и полиэфиркетонным связующими. Снижение суммарного газовой выделения характеризующее радиационно-химические превращения в исследованных полимерах было немонотонным, и определялось химическим составом связующего, при одновременном изменении спектра качественного состава веществ. Так, в составе газовой выделения ПКМ с эпоксидным связующим наблюдалось увеличение спектра алифатических альдегидов, характерных для данного связующего. Химический состав газовой выделения углепластиков с фталонитрильным связующим характеризовался компонентами связующего (азотсодержащие соединения, фталаты), однако значимую часть от суммарного газовой выделения углепластиков с фталонитрильным связующим составляли соединения группы одноатомных спиртов (этанол, бутанол), которые широко

используются при изготовлении различных видов связующих и в качестве растворителей при их синтезе на производстве.

Наблюдаемая динамика газовыделения углепластиков, характерна для преобладания процессов сшивания полимерных цепей, обусловленное высокой молекулярной массой ПКМ полимера, сравнительно медленным протеканием реакций разрыва С—С-связи. Однако детектирование компонентов характерных для химического состава связующего, свидетельствует о протекании одновременно радикального окислительного, процесса низкомолекулярных углеводородов, уже на ранней стадии деструкции композитных полимеров и зависит от вида связующего.

**ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТОВ ТРАНСПЛАНТАЦИИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ В СОЧЕТАНИИ
С ХИРУРГИЧЕСКИМ ИССЕЧЕНИЕМ ЛУЧЕВЫХ ЯЗВ КОЖИ ПРИ ТЕРАПИИ
ТЯЖЕЛЫХ МЕСТНЫХ РАДИАЦИОННЫХ ПОРАЖЕНИЙ У КРЫС**

В.Г. Лебедев, Ю.Б. Дешевои, Т.А. Насонова, О.А. Добрынина,

Т.А. Астрелина

Государственный научный центр – Федеральный медицинский биофизический
центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия
e-mail: vgleb468@yandex.ru

Резюме. Исследовано влияние трансплантации культивированных мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток (ММСК) и клеток стромально-васкулярной фракции (СВФ) жировой ткани, а также хирургического иссечения лучевых язв на течение тяжелых местных радиационных поражений у крыс, облученных в дозе 110 Гр. Показано, что клеточная терапия с применением ММСК и СВФ способствовала ускорению заживления лучевых язв и облегчению течения патологического процесса. Трансплантация клеток СВФ увеличивала скорость заживления хирургических ран. Хирургическое иссечение лучевых язв в сочетании с клеточной терапией может оказаться эффективным способом лечения тяжелых местных лучевых поражений.

Ключевые слова: мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, стромально-васкулярная фракция, жировая ткань, местные лучевые поражения

**INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF TRANSPLANTATION OF ADIPOSE
TISSUE MESENCHYMAL STEM CELLS IN COMBINATION WITH SURGICAL
EXCISION OF SKIN RADIATION ULCERS IN THE TREATMENT OF SEVERE
LOCAL RADIATION INJURIES IN RATS**

V.G. Lebedev, Yu.B. Deshevoy, T.A. Nasonova, O.A. Dobrynina, T.A. Astrelina

State scientific center – A.I. Burnasyan Federal medical biophysical center of FMBA of
Russia, Moscow, Russia
e-mail: vgleb468@yandex.ru

Summary. The effect of transplantation of cultured multipotent mesenchymal stem cells (MMSCs) and cells of the stromal vascular fraction (SVF) of adipose tissue, as well as surgical excision of radiation ulcers, on the course of severe local radiation lesions in rats irradiated at a dose of 110 Gy was studied. It has been shown that cell therapy using MMSC and SVF contributed to accelerating the healing of radiation ulcers and easing the course of the pathological process. Transplantation of SVF cells enhanced the healing rate of surgical wounds. Surgical excision of radiation ulcers in combination with cell therapy may be an effective way to treat severe local radiation lesions.

Key words: multipotent mesenchymal stromal cells, stromal vascular fraction, adipose tissue, local radiation damage.

Одним из наиболее распространенных видов повреждений при воздействии ионизирующего излучения на человека являются лучевые поражения кожи. Тяжелые местные лучевые поражения, которые могут возникать при радиационных авариях, а также как осложнения после радиотерапии опухолей, характеризуются развитием длительно незаживающих язв на фоне нарушения трофики тканей [1]. Лечение радиационных язв с применением обычных консервативных методов является очень сложной задачей и часто требует проведения хирургических вмешательств [2]. Перспективным способом лечения местных лучевых поражений является применение клеточной терапии с использованием мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток (ММСК), выделенных из жировой ткани [3]. Стволовые клетки жировой ткани

могут применяться как в виде культивированных ММСК, так и в виде стромально-васкулярной фракции (СВФ) [4,5].

Целью исследования явилось изучение влияния трансплантации культивированных ММСК и клеток стромально-васкулярной фракции жировой ткани в сочетании с хирургическим иссечением радиационных язв на течение тяжелых местных радиационных поражений.

Крыс инбредной линии Wistar-Kyoto подвергали локальному воздействию рентгеновского излучения в подвздошно-поясничной области спины на установке ЛНК-268 (РАП 100 – 10) в дозе 110 Гр при мощности дозы 20,0 Гр/мин, напряжении 30 кВ, силе тока 6,1 мА, фильтр 0,1 мм Al, площадь поля облучения на поверхности кожи составляла 8,5 см². Эти параметры лучевого воздействия позволяют получать тяжелые лучевые поражения кожи с длительно незаживающими язвами у крыс [6]. Жировую ткань для получения ММСК и СВФ брали от интактных крыс. При заборе биоматериала животных наркотизировали путем внутрибрюшинного введения препарата «Золетил» (Virbac, Франция) в дозе 10 мг/кг. Для изучения влияния культивированных ММСК жировой ткани использовали клетки второго пассажа, полученные от интактных крыс и размноженные *in vitro*. Культивированные ММСК вводили двукратно в дозах 1,1 x 10⁶ и 1,0 x 10⁶ на 27-е и 34-е сутки после действия радиации, соответственно. Выделение СВФ проводили путем ферментативной обработки размельченной жировой ткани в 0,015 % растворе коллагеназы IA для растворения коллагеновых волокон и освобождения клеток. Клетки СВФ вводили двукратно на 28-е и на 35-е сутки после облучения в дозах 2,1 x 10⁶ и 2,2 x 10⁶, соответственно. Хирургическое иссечение язв проводили на 22–23-е сутки после облучения, отступив 5–7 мм от внешней границы лучевой язвы. После облучения проводили наблюдение за процессом развития местного лучевого поражения и оценивали эффективность терапии. Анализировали динамику изменения площади радиационных язв и степени тяжести поражения у животных опытных групп по сравнению с облученным контролем. Площадь язв определяли с помощью планиметрии, которую проводили еженедельно, начиная с 14-х суток после облучения, в течение 4 месяцев. Тяжесть течения лучевого поражения кожи оценивали в динамике по клиническим проявлениям, с использованием балльной шкалы оценок.

Установлено, что у всех животных к концу 3-й недели после облучения образовывались язвы, покрытые плотным струпом. Площадь лучевых язв у крыс контрольной группы в период с 21-х до 112-х суток медленно уменьшалась от 4,6±0,5 см² до 0,47±0,10 см². Иссечение лучевых язв приводило к ускорению заживления раневого дефекта. К 70-м суткам после облучения у 37,5 % животных опытной группы с иссечением язвы заживали с образованием атрофического рубца, а к 112-м суткам число животных с атрофическими рубцами достигало 87,5 %. В контрольной группе к 112-м суткам после облучения полного заживления язв не было отмечено.

Изолированная трансплантация культивированных ММСК способствовала ускорению заживления лучевых язв, хотя в меньшей степени, чем в группе крыс с одним иссечением. Так, в группе с введением ММСК наблюдалось снижение клинических проявлений тяжести течения лучевого поражения. В условиях комбинированного применения трансплантации ММСК и иссечения было отмечено положительное влияние на скорость восстановления как по показателям уменьшения площади язв, так и по уменьшению степени тяжести лучевого поражения.

Трансплантация клеток СВФ также способствовала ускорению заживления лучевых язв. Статистически значимое уменьшение площади язв при введении СВФ по сравнению с контрольной группой отмечалось, начиная с 75-х суток после облучения ($p < 0,05$). Наблюдалось также снижение степени тяжести клинических проявлений лучевого поражения. Введение клеток СВФ улучшало течение раневого процесса после иссечения и усиливало скорость заживления хирургической раны в период с 49-56 сутки после облучения. В условиях комбинированного применения иссечения и трансплантации СВФ

опытная группа крыс статистически значимо отличалась от группы с одним иссечением ($p < 0,05$) по клиническим показателям тяжести течения поражения.

Таким образом, представленные данные показывают, что трансплантация культивированных ММСК и клеток стромально-васкулярной фракции жировой ткани при тяжелых местных радиационных поражениях кожи у крыс способствует ускорению заживления лучевых язв и облегчению течения патологического процесса, хирургическое иссечение лучевых язв в сочетании с клеточной терапией может оказаться эффективным способом лечения тяжелых местных лучевых поражений.

1. Радиационная медицина. Руководство для врачей-исследователей и организаторов здравоохранения. /под ред. Л.А. Ильина -М.: ИздАТ. 2001. Т.2. 432 с.
2. Надежина Н.М., Галстян И.А. Лечение местных лучевых поражений. Под ред. проф. Котенко К.В. и проф. Бушманова А.Ю. - М.: ФГБУ ГНЦ-ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России. 2013. 99 с.
3. Akita S., Yoshimoto H., Ohtsuru A. et al. Autologous adipose-derived regenerative cells are effective for chronic intractable radiation injuries. // Radiation protection dosimetry. 2012. V. 151. N4. P. 656–660.
4. Rezvani M. Therapeutic Potential of Mesenchymal Stromal Cells and Extracellular Vesicles in the Treatment of Radiation Lesions—A Review. Cells. 2021. N10. P. 427–425.
5. Schafer R., Spohn G., Baer P. Mesenchymal stem/stromal cell in regenerative medicine: can preconditioning strategies improve therapeutic efficacy? // Transfusion medicine and hemotherapy. 2016. V. 43. P. 256–267.
6. Котенко К.В., Мороз Б.Б., Насонова Т.А и др. Экспериментальная модель тяжелых местных лучевых поражений кожи после действия рентгеновского излучения. // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2013. № 4. С. 121–123.

ГЕНОТОКСИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ НТО И ³Н-ТИМИДИНА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ПОСТУПЛЕНИИ В ОРГАНИЗМ КРЫС С ПИТЬЕВОЙ ВОДОЙ И ОБЪЕМНОЙ АКТИВНОСТИ 200 кБк/л

А.А. Максимов, С.М. Роднева, Е.С. Жорова, Г.С. Тищенко, Л.П. Сычева, Ю.А. Федотов, А.А. Цишинатти, Д.В. Гурьев, В.Г. Барчуков

Государственный научный центр – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия
e-mail: maximov418@yandex.ru

Резюме. В эксперименте на крысах изучены эффекты хронического воздействия оксида трития и ³Н-тимидина с объемной активностью 200±20 кБк/л. Количественная оценка формирования фокусов γ H2AX, как маркера двунитевых разрывов ДНК, в спленотоцитах крыс показывает, что как НТО, так и ОСТ оказывают повреждающее действие на ДНК, при этом действие Н³-тимидина более выражено. Статистически значимый эффект в обеих опытных группах по сравнению с контролем выявлен также при анализе образования микроядер в ректальных эпителиоцитах, однако отличия между опытными группами статистически не достоверны.

Ключевые слова: оксид трития, органические соединения трития, фокусы γ H2AX, двунитевые разрывы ДНК, микроядра

GENOTOXIC EFFECT OF TRITIUM OXIDE AND ³H-THYMIDINE WITH SPECIFIC ACTIVITY OF 200 kBq/l FOLLOWING LONG-TERM ORAL ADMINISTRATION IN RATS

A.A. Maksimov, S.M. Rodneva, E.S. Zhorova, G.S. Tishchenko, Yu.A. Fedotov, A.A. Thishnatti, D.V. Guryev, V.G. Barchukov

State scientific center – A.I.Burnazyan Federal medical biophysical center of FMBA of Russia, Moscow, Russia
e-mail: maximov418@yandex.ru

Abstract. Long term effects of HTO and ³H-thimidine with specific activity 200±20 kBq/l were studied during the experiment on rats. According to the quantitative estimation of γ H2AX foci used as markers of splenocyte DNA double-strand breaks both HTO and OBT cause damages in DNA, however, the effect of ³H-thimidine is more significant. Analysis of rectal epithelial cells micronuclei formation represents statistically significant effect in both groups compared to the control group, although, the difference between them lies beyond statistical reliability.

Key words: tritium oxide, organically bounded tritium, γ H2AX foci, DNA double-strand breaks, micronuclei

Образование трития сопровождается деятельностью ОИАЭ и, благодаря высоким диффузионным и миграционным способностям этого радионуклида, приводит к его поступлению в организм персонала этих предприятий и населения, проживающего вблизи них. Тритий поступает в организм как в виде оксида (НТО), так и в составе органических соединений (ОСТ). Различные соединения трития оказывают разное радиотоксическое действие на ткани и клетки организма, что связано с особенностями биокинетики каждого соединения. Все это необходимо учитывать при определении дозы от трития. Отсутствие научного консенсуса в вопросе опасности воздействия излучения трития на организм человека приводит к существенным различиям в нормировании этого радионуклида в разных странах. Все это требует тщательного исследования воздействия на организм трития и его соединений с использованием новых высокоточных методов анализа. Так как длина пробега электронов, испускаемых атомами трития (0,56 мкм) сопоставима с размером биологически значимых структур ДНК, то при встраивании соединения в ядро, радионуклид оказывает непосредственное действие на генетический материал клетки.

Наиболее серьезным видом повреждений ДНК являются двунитевые разрывы (ДР). Для исследования их количественного выхода применяют иммуноцитохимическое окрашивание фокусов фосфорилированного гистона H2AX (γ H2AX), наличие которых сигнализирует о процессе репарации ДР ДНК. Также для оценки генотоксического воздействия применяют микроядерный (МЯ) тест.

Целью исследования было определение уровня повреждений ДНК по фокусам γ H2AX в спленocyтaх и количественная оценка выхода МЯ в полихроматофильных эритроцитах (ПХЭ) красного костного мозга и эпителиоцитах толстого кишечника при длительном поступлении НТО или ОСТ в организм крыс с питьевой водой.

В эксперименте использовали 18 самцов крыс линии Wistar, которые без ограничений пили питьевую воду, содержащую НТО или ^3H -тимидин (в качестве ОСТ) с объемной активностью 200 ± 20 кБк/л. Контрольные животные (4 особи) получали обычную питьевую воду. Цитогенетические исследования проводили на 30 сутки после начала поступления радиоактивных сред в организм крыс. Также изучалось распределение удельной активности трития в органах (печень, селезенка, семенник) и крови по окончании эксперимента и содержание трития в моче на 4, 7, 11, 14, 18, 21, 25 и 27 сутки, что позволило оценить динамику выведения трития из организма.

При анализе образования микроядер статистически значимый эффект в обеих опытных группах выявлен только для ректальных эпителиоцитов: частота ПХЭ с МЯ в группах «НТО» и « ^3H -тимидин» в 3,3 и 2,6 раз выше, чем в группе контроля (критерий Манна-Уитни, $p \leq 0,05$). Однако отличия между опытными группами по критерию χ^2 статистически не достоверны. Наблюдаемые отличия между показателями в двух органах также статистически не достоверны.

Исследование ДР ДНК показывает, что все радиоактивные соединения оказывают повреждающее действие на ДНК спленоцитов крыс. При этом H^3 -тимидин оказывает примерно в 2 раза более серьезное повреждающее действие на генетический материал клетки: численный выход фокусов γ H2AX в этой группе выше в 3,8 раз, чем у одновозрастного контроля, в то время как для группы «НТО» это значение составляет 2,1 раз.

Данные радиометрии свидетельствуют о равномерном распределении трития между печенью, семенниками и кровью в обеих опытных группах. Так, значения удельной активности трития в них для группы «НТО» статистически не различаются и составляют 131 ± 11 кБк/кг, для группы « ^3H -тимидин» – 76 ± 7 кБк/кг. В случае с селезенкой имеет место меньшее накопление трития по сравнению с другими органами. Для группы «НТО» его содержание составляет 99 ± 20 кБк/кг, хотя отличие этого показателя от его значений в других органах и крови статистически не достоверно. Для группы « ^3H -тимидин» оно составляет 44 ± 5 кБк/кг и статистически достоверно отличается от значений в других органах и крови ($p \leq 0,05$). Как видно из представленных данных, для всех исследованных органов содержание трития в группе «НТО» больше, чем в группе « ^3H -тимидин», и эти различия статистически значимы ($p \leq 0,05$). Это говорит о более активном накоплении трития в форме НТО в органах и крови по сравнению с ^3H -тимидином. При этом анализ выведения показывает, что содержание трития в моче в группе «НТО» меньше, чем в группе « ^3H -тимидин» ($p \leq 0,05$), и это явление сохраняется на протяжении всего эксперимента.

Таким образом, показано, что ^3H -тимидин при менее активном накоплении в органах и крови, в сравнении с НТО, тем не менее, оказывает более значимое генотоксическое воздействие на организм. Этот факт обуславливает необходимость проведения исследований воздействия других видов ОСТ с различной объемной активностью на животных, что является важным этапом для уточнения относительной биологической эффективности трития и его соединений и корректной оценки потенциальных рисков от трития в атомной промышленности.

ИЗМЕНЕНИЕ УЛЬТРАФИОЛЕТ-ИНДУЦИРОВАННОГО ЛУЧЕВОГО И ПОСТЛУЧЕВОГО ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В КЛЕТКАХ MCF-7 ЭКСТРАКТАМИ ИЗ ЛИШАЙНИКОВ

М.В. Матвеенков, В.М. Щемелев

Государственное научное учреждение Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси, Гомель, Беларусь
e-mail: matvey.matveenkov@mail.ru

Резюме. В работе оценена способность экстрактов из *Ramalina pollinaria* и *Evernia prunastri* модифицировать окислительные эффекты ультрафиолетового излучения в отношении опухолевых клеток линии MCF-7. Выявлено усиление прооксидантных свойств ультрафиолета, при инкубировании клеток с этанольным экстрактом из *Evernia prunastri*. В свою очередь, метанольный экстракт из *Ramalina pollinaria*, наоборот, снижал ультрафиолет-индуцированное окисление клеток. Оценка постлучевого редокс-статуса клеток выявила, что с течением времени модифицирующие эффекты экстрактов изменяются. Этанольный экстракт из *Evernia prunastri* ослабляет постлучевые окислительные процессы в клетках, метанольный из *Ramalina pollinaria* – усиливает.

Ключевые слова: ультрафиолет, экстракты из лишайников, окислительный стресс, постлучевой окислительный стресс, клетки линии MCF-7.

MODIFICATION OF ULTRAVIOLET-INDUCED RADIATION AND POST-RADIATION OXIDATIVE STRESS IN MCF-7 CELLS BY LICHEN EXTRACTS

M.V. Matveenkau, V.M. Schemelov

Institute of Radiobiology of National Academy of Sciences of Belarus, Gomel, Belarus
e-mail: matvey.matveenkov@mail.ru

Summary. The study evaluated the ability of extracts from *Ramalina* and *Evernia* to modify the oxidative effects of ultraviolet (UV) radiation on MCF-7 tumor cells. An enhancement of the pro-oxidant properties of UV radiation was observed when cells were incubated with the ethanol extract from *Evernia*. Conversely, the methanol extract from *Ramalina* reduced UV-induced oxidation in the cells. The assessment of post-radiation redox status revealed that the modifying effects of the extracts change over time. The ethanol extract from *Evernia* weakened post-radiation oxidative processes in the cells, while the methanol extract from *Ramalina* intensified them.

Key words: ultraviolet, lichen extracts, oxidative stress, post-radiation oxidative stress, MCF-7 cells.

Введение. Исследование ряда фотофизических и биологических свойств экстрактов из лишайников позволяет рассматривать их как перспективный источник веществ, способных модифицировать воздействие ультрафиолетового излучения на клетки кожи человека. Однако биологические эффекты экстрактов, изменяющих протекание УФ-индуцированных реакций в опухолевых клетках, описаны недостаточно. Данная работа направлена на оценку влияния метанольным и этанольным экстрактами из *Ramalina pollinaria* и *Evernia prunastri* на окислительные процессы у клеток линии MCF-7 при облучении ультрафиолетом.

Материалы и методы. Для исследования эффектов воздействия УФ клеточные культуры экспонировали заданное время на поверхности стеклянного УФ фильтра системы гель-документации Chemidoc (BioRad), предварительно добавив в питательную среду экстракт в концентрациях: 10, 5 и 2,5 мкг/мл. Энергетический максимум излучения 315 нм, расчётная интегральная (280-450 нм) мощность светового потока 1446 мкВт/см². Доля UV-B – 40 % от всего УФ диапазона, мощность светового потока после прохождения

через пластик ЧП для UV-B составила 464 мкВт/см² (280-315 нм), для UV-A составила 689 мкВт/см² (315-400 нм). Определение окислительного статуса клеток проводили с помощью специфического к свободным радикалам внутриклеточного зонда (H₂DCF-DA). Вкратце культуру опухолевых клеток преинкубировали в 96-и луночных планшетах до достижения ими фазы экспоненциального роста, в течение 24 ч. Далее вносили экстракты в концентрации 10,0; 5,0 и 2,5 мкг/мл и инкубировали еще сутки. По прошествии времени инкубации, среду удаляли путем аспирации и вносили в лунки раствор (10 мкМ) зонда в сбалансированном растворе Хенкса, инкубировали клетки 30 минут. Далее заменяли раствор зонда на чистый раствор Хенкса и экспонировали клетки в дозе 8,35 мДж/см². Сразу после экспозиции регистрировали флуоресценцию зонда в планшетном спектрофотометре на следующих длинах волн: возбуждение $\lambda = 485$ нм; излучение $\lambda = 528$ нм. Для регистрации постлучевого окислительного стресса клетки преинкубировали в 96-и луночном планшете в течение 24 часов. Далее удаляли питательную среду и вносили 100 мкл растворов экстрактов в концентрации 10,0; 5,0 и 2,5 мкг/мл в питательной среде Хенкса. Клетки экспонировали клетки в дозе 8,35 мДж/см² и после одного часа после облучения вносили еще 100 мкл питательной среды Хенкса, содержащей 100 мкМ зонда (DCF-DA). Далее клетки инкубировали в течение суток и измеряли уровень флуоресценции накопленной за сутки окисленной формы зонда. Количественно окислительные процессы выражали в относительных единицах флуоресценции зонда, нормированных на количество белка в клеточном лизате по методу Лоури.

Результаты и обсуждение. В ходе исследования было выявлено, что экстракт из лишайника *Ramalina pollinaria* усиливал окислительное действие ультрафиолетового излучения на клетки до 56 % в концентрации 2,5 мкг/мл. Однако спустя сутки данный экстракт ослаблял окислительное воздействие до 13 %, в той же концентрации. В противоположность этому, другой экстракт ослаблял окислительное действие ультрафиолета на 23 %, но спустя сутки его усиливал на 9 %. Эти результаты указывают на сложное и динамическое взаимодействие экстрактов с клеточными механизмами защиты и повреждения, вызванными УФ-излучением

Выводы. Выявленные в данной работе свойства экстрактов указывают на их способность модифицировать фоточувствительность опухолевых клеток. Наблюдаемые изменения в окислительных эффектах облучения свидетельствуют о как минимум частичной реализации фотосенсибилизирующих свойств экстрактов за счет усиления ультрафиолет-зависимого окислительного стресса.

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ СНИЖЕНИЯ УРОВНЯ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ПРИ ПРОЛОНГИРОВАННОМ ОБЛУЧЕНИИ МЫШЕЙ НЕЙТРОНАМИ

Е.Ю. Москалева, А.Н. Романцова, А.С. Журник, И.В. Чешигин

НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

e-mail: Moskaleva_EY@nrcki.ru

Резюме. Введение индралина, мексидола, метформина, ацетилцистеина и глутатиона перед γ -облучением мышей в дозе 1 Гр снижает частоту полихроматофильных эритроцитов (ПХЭ) с микроядрами (МЯ) в костном мозге. Показана эффективность ацетилцистеина для снижения этого показателя при пролонгированном облучении нейтронами и необходимость исследования других указанных препаратов для этой цели при таком воздействии. При пролонгированном облучении более информативен анализ МЯ в клетках периферической крови.

Ключевые слова: микроядра, костный мозг, периферическая кровь, пролонгированное облучение, нейтроны, γ -облучение, радиопротекторы

A POSSIBILITY STUDY ON ATTENUATION OF CYTOGENETIC DAMAGE IN MICE AFTER PROLONGED NEUTRON IRRADIATION

E.Yu. Moskaleva, A.N. Romantsova, A.S. Zhirnik, I.V. Cheshigin

NRC "Kurchatov Institute", Moscow, Russia

e-mail: Moskaleva_EY@nrcki.ru

Summary. Administration of indralin, mexidol, metformin, acetylcysteine and glutathione before γ -irradiation of mice at a dose of 1 Gy is effective in reducing the frequency of polychromatophilic erythrocytes (PCE) with micronuclei (MN) in bone marrow. The efficacy of acetylcysteine in reducing of this indicator during prolonged neutron irradiation and the need for research of other drugs under these conditions have been shown. During prolonged radiation, analysis of MN in peripheral blood cells is more informative.

Key words: micronuclei, bone marrow, peripheral blood, prolonged irradiation, neutrons, γ -radiation, radioprotectors

При длительном профессиональном облучении в разных сферах, включая работу космонавтов, а также при радиологических диагностических обследованиях в лимфоцитах периферической крови регистрируется повышение уровня цитогенетических повреждений (ЦП). С формированием таких нарушений связывают возможность развития нежелательных отдаленных последствий в виде онкологических заболеваний. Поэтому актуальной проблемой является поиск возможности снижения уровня ЦП или предупреждения их появления при профилактическом использовании нетоксичных лекарственных препаратов перед лучевым воздействием. В ее решении большое внимание уделяется использованию препаратов разных классов, в первую очередь антиоксидантов, витаминов и тиол-содержащих препаратов [1]. Однако, несмотря на то, что исследования по радиопротекторам продолжаются более 60 лет, и разработан ряд эффективных при остром облучении средств, вопрос о выборе нетоксичных препаратов для снижения уровня ЦП при действии низких доз пролонгированного облучения остается открытым, хотя он имеет большое значение для снижения возможных канцерогенных эффектов от облучения в низких дозах. Удобным маркером для анализа ЦП в экспериментах на животных служит определение частоты полихроматофильных эритроцитов (ПХЭ) с микроядрами (МЯ) в костном мозге и ПХЭ и нормохромных эритроцитов (НХЭ) периферической крови мышей. МЯ содержат ацентрические фрагменты хромосом или целые хромосомы, их появление зависит от степени повреждения ДНК и сохранения нерепарированных повреждений в клетках.

Цель работы – исследование возможности снижения уровня ЦП в клетках костного мозга (частоты появления ПХЭ с МЯ) и периферической крови (частоты появления ПХЭ и НХЭ с МЯ) при пролонгированном облучении мышей нейтронами в низкой дозе после выбора наиболее эффективного препарата, защищающего мышей от ЦП при общем γ -облучении в дозе 1 Гр.

Методы. Общее γ -облучение мышей C57BL/6 проводили на установке «ГУТ-200М» (^{60}Co , мощность дозы – 0,45 Гр/мин), пролонгированное облучение нейтронами – в дозе 0,15 Гр в течение 3 суток – на установке ОР-М НИЦ «Курчатовский институт» в стационарном равномерном поле быстрых нейтронов и сопутствующих гамма-квантов, сформированном с использованием пяти $\text{Pu}(\alpha, n)\text{Be}$ радионуклидных источников. Диапазон энергий быстрых нейтронов составлял от 0,1 до 11 МэВ со средней энергией $\sim 4,9$ МэВ. Энергия сопутствующего жесткого моноэнергетического гамма-излучения равна 4,43 МэВ. Суммарная мощность поглощенной дозы быстрых нейтронов и гамма-квантов с энергией выше 0,1 МэВ составляла 2,13 мГр/ч, на нейтроны приходилось 75% мощности поглощенной дозы – 1,57 мГр/ч. Частоту ПХЭ с МЯ в костном мозге определяли через 24 ч после воздействия по методу [2], а также в костном мозге и периферической крови с помощью проточной цитометрии [3]. В качестве препарата сравнения использовали радиопротектор индралин (Б-190, «Фармзащита»), так как он не только обладает высокой радиозащитной эффективностью [1], но и снижает частоту ПХЭ с МЯ при введении животным перед облучением [4]. Для выбора профилактического препарата для снижения ЦП при облучении нейтронами предварительно исследовали эффективность кверцетина, дигидрокверцетина, аптечных препаратов феруловой кислоты, ранитидина, фамотидина, мексидола, метформина, ацетилцистеина и глутатиона при разных схемах введения перед γ -облучением мышей в дозе 1 Гр.

Результаты. Зависимость возрастания частоты ПХЭ с МЯ от дозы γ -излучения была линейной, аппроксимировалась уравнением $y = 4,4 + 33,3x$ ($R=0,99$, $p=0,01$) и использовалась для расчета ФИД при использовании защитных препаратов. Показано, что при в/б введении мышам препаратов кверцетина, дигидрокверцетина, феруловой кислоты, ранитидина и фамотидина в концентрациях, указанных в литературе, перед γ -облучением в дозе 1 Гр снижения уровня ЦП обнаружено не было. Внутривенное введение индралина (100 мг/кг, за 10 мин до облучения), мексидола (150 мг/кг, до или после облучения), ацетилцистеина (700 мг/кг за 30 мин до облучения и сразу после него) и глутатиона (100 мг/кг, 4 дня до и сразу после облучения), а метформина (200 мг/кг 3 дня до или 200 мг/кг сразу после облучения) - внутривенно, позволяло снизить уровень ЦП. ФИД для этих препаратов составил 1,6; 1,4-1,6; 1,4; 1,4 и 1,4-1,6 соответственно. Снижение частоты ПХЭ с МЯ при действии этих препаратов в указанных условиях составляло около 20%, что коррелирует с ранее опубликованными для разных условий данными [4]. Таким образом, эти препараты в выбранных концентрациях позволяли снизить уровень ЦП в клетках костного мозга, что позволило исследовать активность одного из них – ацетилцистеина – при пролонгированном облучении нейтронами. Препарат вводили мышам 7 раз (утром и вечером ежедневно в течение 3 суток и один раз сразу после окончания облучения нейтронами, когда животные набирали дозу 0,15 Гр). При исследовании динамики частоты ПХЭ с МЯ после облучения показано, что наиболее высокий уровень этого показателя регистрируется через 24 ч после воздействия, который затем снижается. Длительность сохранения ЦП и в костном мозге и в крови была пропорциональна дозе воздействия. Поскольку за время облучения при пролонгированном воздействии часть ПХЭ с МЯ может дифференцироваться в НХЭ и оба типа эритроцитов с МЯ могут покидать костный мозг и переходить в периферическую кровь, частоту ПХЭ с МЯ анализировали и в костном мозге, и в крови также через 24 ч после окончания облучения. В костном мозге контрольных мышей, облученных мышей и облученных мышей, получавших ацетилцистеин, частота ПХЭ с МЯ составила $1,2 \pm 1,0\%$; $2,1 \pm 0,2\%*$ и $2,3 \pm 0,3\%*$ (* – $p < 0,05$ от контроля) и защитное действие препарата

обнаружено не было. В то же время в периферической крови эти показатели составили $1,6 \pm 0,5\%$, $4,0 \pm 0,2\%*$ и $3,3 \pm 0,2\%*#$ ($p=0,046$) соответственно. МЯ были обнаружены также в НХЭ, частота НХЭ с МЯ составила $1,1 \pm 0,0\%$; $1,5 \pm 0,06\%*$; $1,2 \pm 0,06\%#$ ($p=0,007$) соответственно. Использование ацетилцистеина позволило уменьшить частоту ПХЭ с МЯ в периферической крови облученных мышей на $17,5\%$ ($p=0,046$), а НХЭ с МЯ – на 20% . Таким образом, при длительном облучении с низкой мощностью дозы анализ клеток эритроидного ряда с МЯ в крови может быть более информативен, чем исследование клеток костного мозга.

Выводы. Представленные результаты свидетельствуют о возможности снижения степени ЦП при использовании фармакологических препаратов не только при однократном действии γ -излучения, но и при пролонгированном облучении в случае плотноионизирующего нейтронного излучения в низкой дозе при использовании ацетилцистеина. Эффективность действия в этих условиях других медицинских тиолов и других препаратов с высоким ФИД, таких как мексидол и метформин, и оптимальные условия их использования предстоит изучить. Работа проведена в рамках госзадания НИЦ «Курчатовский институт».

1. Ушаков И.Б., Васин М.В. Лекарственные средства и природные антиоксиданты как компоненты противорадиационных контрмер в космических полетах // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2017. 62(4): 66–78.
2. Schmidt W. The Micronucleus test. // Mutat Res. 1975. 31(1): 9–15.
3. Dertinger S. D., Camphausen K., Macgregor J. et al. Three-color labeling method for flow cytometric measurement of cytogenetic damage in rodent and human blood // Environ Mol Mutagen. 2004. 44(5): 427–435.
4. Сычева Л. П., Лисина Н. И., Щеголева Р. А., Рождественский Л. М. Антимутагенное действие противолучевых препаратов в эксперименте на мышах. // Радиационная биология. Радиоэкология. 2019. 59(4): 388–393.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЯБЛОЧНОЙ, АСКОРБИНОВОЙ И ЯНТАРНОЙ КИСЛОТ НА РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫЙ ОКСИДАНТНЫЙ СТРЕСС В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК A549

А. А. Москковский¹, Л. А. Ромодин²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский биотехнологический университет», Москва, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна», Москва, Россия
e-mail: moskowsky.sch858@gmail.com

Резюме. В эксперименте на монослойной клеточной культуре аденокарциномы лёгкого человека (A549) флуориметрическим методом было изучено влияние яблочной, аскорбиновой и янтарной кислот на интенсивность процессов радиационно-индуцированного окислительного стресса. Показано снижение выраженности окислительного стресса, вызванного воздействием рентгеновского излучением в дозе 8 Гр, в клетках под действием исследуемых веществ.

Ключевые слова: яблочная кислота, аскорбиновая кислота, янтарная кислота, A549, окислительный стресс, ионизирующее излучение

STUDY OF THE EFFECTS OF MALIC, ASCORBIC AND SUCCINIC ACIDS ON RADIATION-INDUCED OXIDANT STRESS IN A549 CELL CULTURE

A. A. Moskovskij¹, L. A. Romodin²

¹ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Russian Biotechnological University, Moscow, Russia

² State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia
e-mail: moskowsky.sch858@gmail.com

Summary. In an experiment on a monolayer cell culture of human lung adenocarcinoma (A549), by the fluorimetric method was studied the effect of malic, ascorbic and succinic acids on the intensity of radiation-induced oxidative stress. A decrease in the severity of oxidative stress caused by exposure to X-ray radiation at a dose of 8 Gy in cells under the action of the studied substances has been shown.

Key words: malic acid, ascorbic acid, succinic acid, A549, oxidative stress, ionizing radiation.

Введение. В настоящее время остаётся актуальной проблема высокой химической токсичности всех общепризнанных радиопротекторных препаратов [1].

Одним из ключевых биологических аспектов влияния радиации на живые организмы является индукция окислительного стресса в клетках тканей [2], возникающего в результате радиолиза молекул, главным образом – воды, и следующего за ним каскада свободно-радикальных реакций, главным образом – перекисного окисления липидов [3].

В связи с этим, представляется перспективным изучение радиозащитных свойств веществ, имеющих антиоксидантную активность [4].

Цель настоящей работы – изучение способности аскорбиновой, яблочной и янтарной кислот нивелировать процессы окислительного стресса, вызванного воздействием ионизирующего излучения, на модели культуры клеток аденокарциномы легкого человека – клеточной линии A549.

Материалы и методы. Клетки линии A549 высевались в чёрные плоскодонные 96-луночные планшеты. После 12-часовой инкубации в бессывороточной среде RPMI 1640 с добавлением глутамин, в процессе которой клетки успевали полноценно прикрепиться ко

дну лунок планшета, в опытные пробы вносились растворы яблочной, янтарной или аскорбиновой кислот так, чтобы их концентрация в пробе составляла 0,1, 0,5, 1 или 2 мМ. Далее клетки инкубировались в течение 2 часов, после чего подвергались воздействию рентгеновского излучения в дозе 8 Гр (мощность дозы 0,85 Гр/мин) на установке РУСТ-М1. Далее пробы окрашивались флуоресцирующими красителями дихлорфлуоресцинином (DCF), позволяющим обнаруживать активные формы кислорода, и Hoechst-33342, который, связываясь с ДНК, позволяет оценивать количество клеток в пробе. Далее пробы в течение 1 часа инкубировались во вновь добавленных растворах изучаемых веществ. После этого методом флуориметрии проводилась оценка интенсивности процессов окислительного стресса в клетках на основании отношения интенсивности флуоресценции DCF к интенсивности флуоресценции Hoechst-33342. В качестве референсных проб были использованы пробы клеток, в которые не были добавлены красители и исследуемые вещества.

Результаты. При добавлении яблочной, янтарной и аскорбиновой кислот наблюдается статистически значимое снижение относительной интенсивности флуоресценции DCF, свидетельствующее об уменьшении концентрации активных форм кислорода в клеточной культуре.

Пробы с добавлением янтарной кислоты демонстрируют наиболее выраженное снижение интенсивности флуоресценции. Несмотря на то, что ни при одной из изученных концентраций интенсивность флуоресценции DCF не снижается до значений флуоресценции необлучённых проб, мы можем говорить о способности янтарной кислоты к подавлению радиационно-индуцированного окислительного стресса.

В пробах с добавлением аскорбиновой и яблочной кислот также наблюдается статистически значимое снижение интенсивности флуоресценции DCF, что свидетельствует о способности данных веществ к ингибированию свободно-радикальных реакций, вызванных воздействием радиации. Кроме того, ни при одной из концентраций изучаемых веществ не наблюдается статистически значимого отличия от интенсивности флуоресценции необлучённых проб.

В необлучённых клетках, подвергнутых воздействию яблочной и аскорбиновой кислот в концентрации 100 мкМ наблюдается статистически значимое повышение интенсивности флуоресценции DCF, свидетельствующее об усилении окислительного стресса в клетках аденокарциномы. Указанный эффект может быть обусловлен тем, что при низкой концентрации активных форм кислорода в клетках аскорбиновая и яблочная кислоты за счёт своих антиоксидантных свойств восстанавливают внутриклеточное железо до Fe^{2+} , взаимодействующего с пероксидами по реакции Фентона [5]. При этом, данный эффект отсутствует в клетках, подвергнутых облучению, т.к. в облучённых пробах аскорбиновая и яблочная кислоты, видимо, быстро реагировали с имеющимися в большом количестве активными формами кислорода, образующимися под действием рентгеновского излучения.

Заключение. Таким образом в ходе нашего исследования были получены данные о способности яблочной, аскорбиновой и янтарной кислот ингибировать процессы радиационно-индуцированного окислительного стресса в культуре клеток аденокарциномы лёгкого человека.

Финансирование. Работа выполнена в рамках НИР "Технология-3" (номер регистрации НИР в системе ЕГИСУ НИОКТР: 1230113001053).

Благодарности. Авторы настоящей статьи выражают благодарность и признательность Игнатову Максиму Александровичу, младшему научному сотруднику лаборатории №46 радиационной биофизики ФГБУ ГНЦ ФМБЦ имени А.И. Бурназяна ФМБА России, за проведение работ по подготовке культуры клеток аденокарциномы лёгкого человека к флуориметрическому исследованию.

1. Рождественский Л.М., Радиационная биология. Радиационная экология, 2020, Т. 60, № 3, С. 279–290
2. Бурлакова Е.Б. и др., Радиационная биология. Радиационная экология, 2014. Т. 54, № 2, С. 162–168
3. Кузин А.М., Структурно-метаболическая теория в радиобиологии, Москва: Наука, 1986, 282 с.
4. Raj S. et al, Current Pharmaceutical Biotechnology, 2022, Vol. 23, № 14, P. 1721–1738
5. Пискарев И.М., Иванова И.П., Современная техника и медицина, 2016. Т. 8, № 3., С. 16–26.

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ ПОБОЧНЫХ ЭФФЕКТОВ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

*Е.В. Мурзина¹, Н.В. Аксенова¹, О.Е. Миргородская¹, Д.Р. Слуцкая¹, Е.Д. Ермакова²,
Е.И. Федорос², А.С. Симбирцев³, Г.А. Софронов¹*

¹Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия

²Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

³Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия
e-mail: elenmurzina@mail.ru

Резюме. В экспериментах на мышах показано повышение выживаемости облученных животных при профилактическом применении бета-D-глюкана из гриба Вешенка обыкновенная и деиммунизированного рекомбинантного флагеллина, снижение выраженности постлучевых изменений радиочувствительных органов и стимуляция репаративных процессов. Получены доказательства отсутствия стимуляции опухолевого роста при применении рекомбинантных препаратов и негативного влияния на эффективность лучевого лечения опухоли Эрлиха у мышей BALB/c.

Ключевые слова: рентгеновское излучение, мыши, бета-D-глюкан, рекомбинантный флагеллин, опухоль Эрлиха, лучевое лечение

PROMISING BIOTECHNOLOGICAL PREPARATION TO REDUCE THE SIDE EFFECTS OF ANTITUMOR RADIOTHERAPY

*E.V. Murzina¹, N.V. Aksenova¹, O.E. Mirgorodskaya¹, D.R. Slutskaia¹, E.D. Ermakova²,
E.I. Fedoros², A.S. Simbirtsev³, G.A. Sofronov¹*

¹S.M. Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of Russian Federation, Saint Petersburg, Russia

²N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia

³State Research Institute of Highly Pure Biopreparations Federal Medical and Biological Agency of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia
e-mail: elenmurzina@mail.ru

Summary. It has been shown that the prophylactic use of beta-D-glucan from the Oyster mushroom and deimmunized recombinant flagellin leads to an increase in the survival rate of mice after X-ray irradiation. There was a decrease in the severity of post radiation changes in radiosensitive organs and stimulation of repair processes. Evidence has been obtained for the lack of stimulation of tumor growth when using recombinant drugs and a negative effect on the effectiveness of radiotherapy of Ehrlich's tumor in BALB/c mice.

Key words: X-rays, mice, beta-D-glucan, recombinant flagellin, Ehrlich tumor, radiotherapy

Введение. Побочные эффекты противоопухолевой лучевой терапии, как известно, не только снижают эффективность данного метода лечения, но и нередко ограничивают возможности его применения. Поэтому поиск радиозащитных препаратов, обеспечивающих защиту здоровых органов и тканей от лучевого воздействия, но не снижающих радиочувствительность опухолей, является одной из приоритетных задач радиационной фармакологии. В качестве перспективных противолучевых средств рассматриваются биотехнологические препараты, сохраняющие физиологическую активность природных соединений, но, благодаря современным возможностям молекулярной биотехнологии, обладающие рядом преимуществ – сниженной токсичностью, большей стабильностью, возможностью быстрой наработки и др.

Целью работы явилось экспериментальное исследование влияния биотехнологических препаратов с противолучевым действием на эффективность лучевого лечения опухоли.

Материалы и методы. В работе использовали биотехнологические препараты, разработанные отечественными учеными – деиммунизированный рекомбинантный флагеллин *Salmonella enterica* с дельтированными гипервариабельными и высокоиммуногенными доменами (ФРБ) и хитино-глюкановый комплекс из пищевого гриба Вешенка обыкновенная, основными биологически активными компонентами которого являются полисахариды бета-D-глюканы (БГ).

Изучение противолучевого действия биотехнологических препаратов проводили в экспериментах на белых беспородных мышах-самцах с костномозговой формой острого радиационного поражения, вызванной общим относительно равномерным облучением животных с использованием рентгенотерапевтической установки «РУМ-17». Раствор ФРБ во всех опытах вводили мышам однократно внутрибрюшинно в дозе 1 мг/кг за 30 мин до облучения. Полисахаридный комплекс, содержащий БГ, вводили внутривенно в виде водного раствора однократно в дозе 500 мг/кг за 30 мин до облучения или многократно в дозах от 50 до 250 мг/кг 5 раз в неделю в течение 2-х недель (заклительное введение проводили перед облучением) в зависимости от поставленных задач. Изучение радиозащитного действия препаратов проводили путем анализа параметров 30-суточной выживаемости мышей после облучения без лечения или с применением исследуемых веществ, а также морфофункциональной оценки состояния радиочувствительных органов в разные сроки после лучевого воздействия.

Исследование влияния БГ и ФРБ на эффективность противоопухолевой лучевой терапии проводили в экспериментах на половозрелых мышах самцах линии BALB/c. Для получения солидной опухоли мышам подкожно в область правого бедра вводили суспензию опухолевых клеток в количестве 10^6 клеток/мышь. Через 12 дней после перевивки опухоли животных подвергали общему облучению в дозе 4 Гр. БГ вводили мышам в двух схемах – однократно в дозе 500 мг/кг за 30 мин до облучения или многократно в дозе 100 мг/кг (как описано выше); внутрибрюшинную инъекцию ФРБ (1 мг/кг) проводили за 30 мин до облучения. Регистрировали клинические проявления токсичности и смертность экспериментальных животных, продолжительность жизни, объем опухоли; проводили макроскопическую оценку прорастания опухоли и диссеминации опухолевого процесса.

Результаты. Профилактическое однократное применение исследуемых препаратов в короткие сроки до облучения мышей в дозе 7,8 Гр приводило к значимому повышению 30-суточной выживаемости облученных животных. Инъекции ФРБ обеспечивали выживаемость 67% грызунов при 8,3% в контрольной группе ($p=0,007$, Лог-Ранк тест). Хотя БГ проявил более низкую эффективность, 30-суточная выживаемость при его применении составила 50% ($p=0,034$ в сравнении с контролем), важно отметить, что данный эффект был получен после перорального введения субстанции. При этом эффективность БГ регистрировалась как при однократном профилактическом применении в дозе 500 мг/кг, так и при многократном использовании в меньших дозах. Дальнейшие исследования показали, что позитивное влияние БГ и ФРБ на 30-суточную выживаемость лабораторных мышей после облучения в летальных дозах ассоциировалось с защитным действием на структуры радиочувствительных систем и органов и стимуляцией репаративных и регенеративных процессов в пораженных тканях. Показано, что введение ФРБ способствовало повышению количества гемопоэтических колониеобразующих единиц на селезенке на 9 сутки после облучения в дозе 7,8 Гр в 2,7 раза по сравнению с нелечеными животными ($p=0,033$, критерий Манна-Уитни), однократное введение БГ – в 2,5 раза ($p=0,024$), что свидетельствует о способности обоих препаратов при профилактическом применении снижать радиочувствительность гемопоэтических стволовых клеток костного мозга, обеспечивая их выживаемость. Изучение

гистологических препаратов селезенки и слизистой оболочки тонкой кишки в разные сроки после облучения на фоне введения БГ и ФРБ продемонстрировало оптимизирующее действие препаратов на тканевые элементы данных органов. Общими положительными эффектами при применении препаратов были: снижение выраженности морфологических изменений органов; сохранение гематоцитопоза в красной пульпе селезенки; сохранение клеток Панета в криптах ворсинок слизистой оболочки тонкой кишки.

Данные по оценке торможения роста опухолевых узлов карциномы Эрлиха у облученных мышей линии BALB/c показали умеренную противоопухолевую эффективность использованного варианта лучевого воздействия, сохраняющуюся на уровне 20-23% (различия статистически незначимы) до 15 дня после облучения и при финальной оценке составившую 30% (различия с необлученным контролем статистически значимы). Используемые препараты при разных режимах введения не вызывали стимуляцию опухолевого роста и не влияли на противоопухолевый эффект лучевого воздействия у мышей с карциномой Эрлиха, при этом при использовании ФРБ и однократном введении БГ на отдельные сроки опыта регистрировались незначительные преимущества в виде дополнительного торможения роста опухоли (на 4-6%). Макроскопический анализ показал, что дополнительная к лучевому лечению терапия с использованием биотехнологических препаратов по сравнению с животными контрольной группы способствовала уменьшению степени местного распространения опухолевого процесса, которое маркировалось наличием прорастания в органы и ткани мышей. Использование ФРБ приводило к уменьшению количества животных с тотальным распространением карциномы Эрлиха, однако данный препарат практически не влиял на величину интегрального балльного показателя диссеминации, в то время как при использовании БГ наблюдалась тенденция к его уменьшению.

Заключение. Результаты проведенных исследований показали, что введение деиммунизированного варианта рекомбинантного флагеллина и хитино-глюканового комплекса из Вешенки обыкновенной в разных режимах не стимулировало опухолевый рост у мышей с перевитыми опухолями и не влияло на противоопухолевую эффективность лучевого лечения. С учетом экспериментально подтвержденной способности данных биотехнологических препаратов обеспечивать защиту от лучевого поражения радиочувствительных органов и систем, они могут быть рассмотрены в качестве перспективных средств для снижения негативных эффектов радиационного воздействия на здоровые ткани при лучевой противоопухолевой терапии.

ЛАБИЛЬНОСТЬ СИСТЕМЫ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ ТКАНИ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПОСТУПЛЕНИИ Cs¹³⁷

*H.C. Мышковец¹, A.C. Бабенко², O.C. Логвинович¹, A.B. Литвинчук¹, A.H. Коваль¹,
Л.Н.Алексеико¹, Ф.А.Лаквич³*

¹Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

²Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

³Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

e-mail: jasjan@mail.ru

Резюме. В эксперименте на крысах полярографическим методом изучено состояние системы окислительного фосфорилирования (ОФ) ткани тонкого кишечника при пероральном поступлении цезия-137. Установлено, что при хроническом поступлении ¹³⁷Cs с продуктами питания возникает облучение кишечной слизистой, что проявляется нарушением энергетических параметров энтероцитов.

Обнаружен эффект специфического действия инкорпорированных радионуклидов ¹³⁷Cs на скорость эндогенного дыхания кишечной слизистой и степень сопряжения окислительного фосфорилирования: характер изменений зависит от уровня накопления радионуклида. При уровне накопления цезия 600-800 и 3000-3300 Бк/кг отмечается угнетение дыхания на эндогенных субстратах, при 10000 Бк/кг этот показатель резко активизируется.

Ключевые слова: инкорпорированные радионуклиды, цезий-137, тонкий кишечник, митохондрия, окислительное фосфорилирование.

LABILITY OF THE OXIDATIVE PHOSPHORYLATION SYSTEM OF SMALL INTESTINE TISSUE IN CHRONIC INTAKE OF Cs¹³⁷

*N.S. Myshkovets¹, A.S. Babenka², O.S. Logvinovich¹, A.V. Litvinchuk¹, A.N. Koval¹,
L.N. Alekseiko¹, F.A. Lakhvich³*

¹Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

²Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

³Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus,
Minsk, Belarus

e-mail: jasjan@mail.ru

Summary. In an experiment on rats, the state of the oxidative phosphorylation system of small intestine tissue was studied by polarographic method with oral administration of caesium-137 for thirty days. It has been established that with chronic intake of ¹³⁷Cs with food, irradiation of the intestinal mucosa occurs, which is manifested by a violation of the energy parameters of enterocytes.

The effect of the specific action of incorporated ¹³⁷Cs radionuclides on the rate of endogenous respiration of the intestinal mucosa and the degree of coupling of oxidative phosphorylation was found: the nature of the changes depends on the level of accumulation of radionuclide. Thus, at the level of caesium accumulation of 600-800 and 3000-3300 Bq/kg, respiratory depression is noted on endogenous substrates, with an accumulation of 10000 Bq/kg, this indicator is sharply activated.

Key words: incorporated radionuclides, caesium-137, small intestine, mitochondria, oxidative phosphorylation.

Изотопы ¹³⁷Cs являются бета-излучателями с высоким коэффициентом относительной биологической эффективности. Попадая в организм и распределяясь по тканям, они оказывают негативное воздействие. Кишечная слизистая выступает физиологическим барьером, который препятствует проникновению этих изотопов во

внутреннюю среду организма. Она относится к аэробным тканям, характеризуется многообразием энергозависимых функций, обусловленных интенсивным кровоснабжением и высоким уровнем пролиферативной активности [1]. Поэтому для слизистой оболочки тонкой кишки крайне важна высокая активность оксидазных систем дыхательной цепи митохондрий и эффективная работа всех точек ОФ. Инкорпорация ^{137}Cs в матрикс митохондрий стимулирует дополнительное образование АФК, приводящее к нарушению митохондриального окисления, которое связано с пероксидным повреждением мембранных белков и фосфолипидов, ферментных комплексов электрон-транспортной цепи, нарушается механизм сопряжения окисления и фосфорилирования [2]. Клетки оказываются в состоянии «энергетического голода» и функциональная активность ткани падает. Вместе с тем анализ литературы не дает чётких представлений о влиянии инкорпорированного ^{137}Cs на процессы митохондриального окисления системы энергообразования кишечной слизистой.

Целью работы явилось исследование лабильности системы ОФ тканевых фрагментов двенадцатиперстной кишки при хроническом поступлении радионуклидов цезия-137 с продуктами питания.

Исследования проводились на белых лабораторных беспородных крысах-самцах массой 180 – 230 г. Животные содержались на стандартном рационе вивария согласно установленным нормам. Были сформированы три опытные группы животных, которые получали радиоактивный корм в течение 14 - 30 дней, и контрольная группа интактных животных. Дозиметрический контроль проводился на сцинтиляционном гамма-спектрометре LP 4900В (Финляндия), что позволило сформировать опытные группы с уровнем накопления радионуклидов 600-800 Бк/кг, 3000-3300 Бк/кг и 10000 Бк/кг.

Животных каждой группы в количестве 6-8 особей выводили из эксперимента путем мгновенной декапитации. При проведении экспериментов были соблюдены требования, регламентированные международными рекомендациями и правилами Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях, от 22 сентября 2010 года.

После декапитации часть тонкого кишечника изолировали (первые 10 см от желудка), промывали в охлажденном физиологическом растворе, выворачивали «наизнанку», освобождали от соединительных элементов и пищевых частиц. Полученные препараты помещали в раствор Хэнкса. Из выделенного участка кишечника получали кольцевые фрагменты (1,5-2 мм). Параметры тканевого дыхания (ТД) и ОФ исследовали методом полярографии на устройстве Record 4 (Пушино, РФ) закрытым платиновым электродом Кларка в ячейке объемом 2 мл при 25°C. Скорость поглощения кислорода тканью выражали в $\text{нмоль O}_2/\text{мин}\times\text{мг белка}$ [3].

Для оценки лабильности системы ОФ тканевых фрагментов двенадцатиперстной кишки при хроническом поступлении радионуклидов определяли скорость потребления кислорода фрагментами кишечника на эндогенных субстратах ($V_{\text{энд}}$) и применяя разобшитель ОФ 2,4-динитрофенол ($V_{\text{днф}}$). Количество повторностей измерений составляло 2-4 на каждое животное. Рассчитывали коэффициент стимулирующего действия разобшителя (СД): $\text{СД}_{\text{днф}} = V_{\text{днф}}/V_{\text{энд}}$.

Статистическую обработку данных выполняли при помощи программ Microsoft Excel 2018, «Statistica» 7.0.

Лабильность системы ОФ слизистой тонкого кишечника в условиях инкорпорации ^{137}Cs оценивали по интенсивности дыхания на эндогенных субстратах и по изменению дыхательной активности после внесения в полярографическую ячейку разобшителя.

В первой опытной группе не было выявлено изменений степени сопряжения ТД и ОФ. Отмечается достоверное уменьшение на 21% потребления кислорода после внесения в ячейку 2,4-ДНФ во второй опытной группе. При этом коэффициент стимулирующего действия ДНФ также на 10% был ниже контрольного значения.

Снижение скорости дыхания и СДднф после внесения разобщителя 2,4-ДНФ может говорить о повреждающем действии радионуклидов ^{137}Cs на целостность внутренней митохондриальной мембраны при уровне накопления 3000-3300 Бк/кг. В активно дышащих митохондриях, ОФ сопровождается накоплением K^+ , Na^+ , Ca^{2+} и Mg^{2+} , а также фосфата и баланс катионов поддерживаются на определенном уровне. Под действием радиации целостность внутренней митохондриальной мембраны может нарушаться, что влечёт потерю митохондриями ионов, при этом эффективность энергообразования существенно снижается из-за разницы в ионном составе между двумя сторонами внутренней митохондриальной мембраны. В таком случае митохондрии не способны к ОФ и динитрофенол уже не влияет на степень сопряжения.

Ярко выражен феномен разобщающего действия 2,4-ДНФ при уровне инкорпорации 10000 Бк/кг, поскольку скорость дыхания при внесении разобщителя составила 265% от контроля. Усиление дыхательной активности и разобщающего действия может возникать вследствие увеличения скорости апоптоза и быть связано с синтезом простагландинов [4]. Воздействие радиации на слизистую оболочку кишечника обычно связывают с замедлением митоза в криптах без торможения миграции эпителиальных клеток из крипт вверх по ворсинкам. Это, в сочетании с потерей митотической функции, ведёт к развитию денудации эпителия и, как следствие, к потере электролитов, воды и белка [4,5].

Таким образом, показано что нарушение скорости тканевого дыхания энтероцитов вызвано хроническим пероральным поступлением ^{137}Cs .

Обнаружен эффект специфического действия инкорпорированных радионуклидов ^{137}Cs на скорость эндогенного дыхания кишечной слизистой и степень сопряжения окислительного фосфорилирования: характер изменений зависит от уровня накопления радионуклида. При уровне накопления цезия 600-800 и 3000-3300 Бк/кг отмечается угнетение дыхания на эндогенных субстратах, при 10000 Бк/кг этот показатель резко активизируется.

1. Thomson A. B. R. et al. Small bowel review: diseases of the small intestine //Digestive diseases and sciences. – 2001. – Т. 46. – С. 2555-2566.
2. Грицук А. И., Коваль А. Н., Сергеев С. М. Показатели тканевого дыхания некоторых органов в условиях естественного поступления в организм радионуклидов цезия // Беларусь и Чернобыль. 15 трудных лет: Матер. междунар. научно-практ. конференции «Медицинские последствия Чернобыльской катастрофы 15 лет спустя» (4–6 апреля 2001 г., г. Гомель). – Мозырь, 2001. – С. 97–99.
3. Франк ГМ. Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом. Москва, РФ: Наука;1973.
4. Macnaughton. new insights into the pathogenesis of radiation-induced intestinal dysfunction //Alimentary pharmacology & therapeutics. – 2000. – Т. 14. – №. 5. – С. 523-528.
5. Яськова Н. С. Изменения энергетического обмена тонкого кишечника на десятки сутки после гамма-облучения //Проблемы здоровья и экологии. – 2007. – №. 4. – С. 141-145.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ПИТАНИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА ИНТАКТНЫХ И ОБЛУЧЕННЫХ МЫШАХ

*О.В. Никитенко^{1,2}, Т.М. Бычкова^{1,2}, Т.А. Караулова¹, И.М. Парфенова¹,
И.Е. Андрианова¹, А.А. Иванов^{1,2}*

¹ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия

²ГНЦ РФ – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия
e-mail: dorozhkina88@mail.ru

Резюме. Установлено, что умеренное ограничение питания оказывает позитивное влияние: повышается митотическая активность клеток костного мозга и снижается уровень цитогенетических нарушений. Последующее облучение снизило пролиферативную способность клеток костного мозга, однако ограничение питания благоприятно повлияло на число хромосомных aberrаций. Полученные данные дают основание полагать, что путем умеренного ограничения суточного рациона можно повысить радиорезистентность клеток костного мозга.

Ключевые слова: мыши, радиация, ограниченное питание, голодание.

INFLUENCE OF DIFFERENT NUTRITION MODES IN AN EXPERIMENT ON NATIVE AND IRRADIATED MICE

*O.V. Nikitenko^{1,2}, T.M. Bychkova^{1,2}, T.A. Karaulova¹, I.M. Parfenova¹,
I.E. Andrianova¹, A.A. Ivanov^{1,2}*

¹State Research Center A. I. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center of the
FMBA of Russia, Moscow, Russia

²State Scientific Center of the Russian Federation – Institute of Medical and Biological
Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
e-mail: dorozhkina88@mail.ru

Summary. It has been established that moderate dietary restriction has a positive effect: the mitotic activity of bone marrow cells increases and the level of cytogenetic disorders decreases. Subsequent irradiation reduced the proliferative capacity of bone marrow cells, but dietary restriction had a beneficial effect on the number of chromosomal aberrations. The data obtained give reason to believe that by moderately restricting the daily diet, it is possible to increase the radioresistance of bone marrow cells.

Key words: mice, radiation, limited nutrition, fasting.

Острый дефицит питания (голодание) у человека и животных обуславливает катастрофические нарушения обмена веществ в различных системах организма. В экспериментах на микроорганизмах показано, что выращивание бактерий и дрожжей на голодных питательных средах обеспечивает повышение их радиорезистентности. Известно, что разнообразные диеты, а также голодание способны существенно изменить реактивность организма. В доступной литературе мы встретили единичное сообщение о возможности позитивного влияния прерывистого голодания перед облучением на течение лучевого поражения. Известно отягощающее действие сниженного питания облученных животных на течение лучевой болезни.

Целью нашей работы стало исследование влияния системных нарушений, развивающихся в условиях дефицита питания в организме животных, на последующий эффект рентгеновского облучения.

Эксперименты выполнены на самках с массой тела 29-38 г и самцах с массой тела 23-26 г аутбредных мышей ICR (CD-1), SPF-категории. Животные содержались по 5 особей, имели свободный доступ к брикетированному корму и воде. Использовали корм «Чара» для мелких лабораторных грызунов.

Однократное кратковременное дорзо-вентральное тотальное облучение мышей осуществляли на рентгеновской биологической установке РУБ РУСТ-М1 при напряжении 200 кВ, ток пучка $2 \times 2,5$ мА, фильтр алюминиевый 1,5 мм. Мощность дозы в контейнере с мышами $0,85$ Гр/мин $\pm 10\%$. Доза облучения составляла 2 Гр, 6,5 Гр, 6,75 Гр и 7,0 Гр. Для моделирования пищевого дефицита использовали 3 варианта рациона питания (на 5 мышей): без ограничений (контроль) – 40 г/сут (группа 1); 10 г/сут (группа 2); 2 г/сут (группа 3). На таком режиме мыши находились в течение 10 дней. Три другие группы (4, 5, 6-я) содержались на том же режиме и затем подверглись облучению. Для оценки радиобиологического эффекта облучения использовали показатели: выживаемость, общезиологические (динамика массы тела, количество выпиваемой жидкости (ежедневно); иммуногематологические (количество лейкоцитов в периферической крови, масса тимуса и селезенки (общепринятыми методами); цитогенетические: определение уровня хромосомных aberrаций в клетках костного мозга ана-телофазным методом.

Наблюдение в течение 10 дней за животными, содержащимися по 5 голов в клетках, показало, что в группах, получавших 10 г и 2 г в сут, мыши поедали корм полностью, в то время как 40 г превышала суточную потребность, которая в среднем составила $25 \pm 0,63$ г. Следовательно, у остальных мышей ежедневная порция составляла 40 % (10 г/сут) и 8 % (2 г/сут) от потребности.

В эксперименте по оценке 30-суточной выживаемости показано, что в группах, получавших 40% питание этот показатель был выше, чем у животных без ограничения. Так при облучении в дозе 6,5 Гр выживаемость составила 40% в группе животных с умеренным ограничением, и 30% в группе без ограничения питания. При облучении в дозе 6,75 Гр в группе с ограничением в питании выживаемость составила 20% и 10 % в группе с полным рационом. При облучении в дозе 7,0 Гр выживаемость составила 10% в группе с умеренным ограничением, в группе с полным рационом питания выживаемость не отмечена.

Оценка состояния мышей через 18 часов после облучения в дозе 2 Гр показала, что масса тела по отношению к зарегистрированной накануне снизилась на 6,6 % в группе 4 с неограниченным режимом питания, на 17 % в группе 5, где питание было снижено на 60% и на 28 % в группе 6, где питание было снижено на 92%. Масса тимуса и селезенки во всех группах была снижена, наиболее значительно в группе 6, рацион которой составлял 8 % от физиологической нормы. У получавших 40 % (группа 5) эти показатели соответствовали изменениям у мышей, питавшихся без ограничений в режиме (группа 4).

Количество лейкоцитов составило соответственно тем же группам $2,3 \pm 0,1 \times 10^9$ /л; $1,8 \pm 0,1$; $1,3 \pm 0,08$ (различия с группой 4 статистически значимы, $p < 0,01$).

Митотический индекс у необлученных животных в группе с минимальным питанием (группа 3) снизился с $1,43 \pm 0,02$ % у контрольных животных до $1,02 \pm 0,03$ %, тогда как при умеренном голодании (группа 2) был на уровне $1,35 \pm 0,6$ %. Через 18 часов после облучения митотический индекс снизился во всех группах до уровня 0,8-0,83%.

Частота aberrантных ана-телофаз у интактных мышей, получавших минимальное количество корма, оказалась несколько выше – $2,38 \pm 0,7\%$ против $1,54 \pm 0,63$ % в контроле (без ограничения в рационе питания). Через 18 часов после рентгеновского облучения число хромосомных aberrаций у питавшихся без ограничений (группа 4) оказалось выше $28,8 \pm 3,35$ %, чем в группах с пониженным и минимальным питанием (соответственно $19,92 \pm 0,94$ % и $18,6 \pm 3,03$ %).

Полученные данные свидетельствуют, что пониженный рацион питания и голодание приводят к выраженным изменениям показателей общезиологического, иммуно-гематологического статуса у интактных мышей. Данных о влиянии пищевого дефицита на ранние проявления лучевого поражения в доступной литературе нами обнаружено не было. Судя по результатам работы, облучение в дозе 2 Гр усугубляет уже имеющиеся изменения, вызванные недостатком питания. Наиболее тяжелые последствия отмечены у животных, находившихся на грани полного голодания (2 г/сут). В то же время

у мышей с ограниченным пищевым рационом (до 40 %) реакция на радиационное воздействие (через 18 час) выражена слабее, что выявляется при сравнении их показателей (масса тела, тимуса, селезенки) с данными аналогичных групп без облучения.

Исследования цитогенетического статуса у необлученных животных продемонстрировали зависимость его показателей от уровня недоедания. В частности установлено, что некоторое ограничение питания оказывает позитивное влияние: повышается митотическая активность клеток костного мозга и снижается уровень цитогенетических нарушений. Последующее облучение ожидаемо снизило пролиферативную способность клеток костного мозга, однако ограничение питания благоприятно повлияло на число хромосомных аберраций (мосты + фрагменты).

Также показано, что ограниченное питание оказало благоприятный эффект по показателю 30-суточной выживаемости мышей в дозах облучения 6,5, 6,75 и 7,0 Гр. Во всех группах с пониженным рационом питания (40% от суточной нормы) показана более высокая выживаемость по сравнению с группами без ограничения в питании.

Суммируя вышеизложенное, следует отметить, что недостаток питания экспериментальных животных закономерно приводит к изменениям их жизненного статуса, в том числе и к цитогенетическим изменениям в костном мозге. Полученные данные дают основание полагать, что путем умеренного ограничения суточного рациона можно повысить радиорезистентность клеток костного мозга, а также иммунокомпетентных клеток тимуса и селезенки.

Все вышеперечисленные обстоятельства открывают принципиальную возможность повышения радиорезистентности млекопитающих.

ИНГИБИТОРЫ СИНТАЗ ОКСИДА АЗОТА КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ СРЕДСТВА ЭКСТРЕННОЙ ПРОТИВОЛУЧЕВОЙ ЗАЩИТЫ ПРИ КОСМИЧЕСКИХ ПЕРЕЛЕТАХ

*К.А. Николаев, В.А. Рыбачук, А.О. Косаченко, Л.И. Шевченко, О.В. Солдатова,
А.А. Шитова, И.К. Волкова, С.Н. Корякин, А.С. Филимонов, М.В. Филимонова*

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ НМИЦ
радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия
e-mail: nirealki@gmail.com

Резюме. В лаборатории радиационной фармакологии МРНЦ им. А.Ф. Цыба разработана группа гипоксических радиопротекторов с NOS ингибирующим механизмом действия, которые способны к профилактике острой лучевой болезни, индуцированной высокоэнергетическим протонным излучением. Планируются исследования влияния одного из перспективных соединений на двигательную и поведенческую активность лабораторных животных после воздействия протонов высоких энергий.

Ключевые слова: космическое излучение, космические полеты, протоны, облучение, ингибиторы NOS, радиопротекторы, лучевая болезнь.

S NITRIC OXIDE SYNTHASE INHIBITORS AS PROMISING MEANS OF EMERGENCY RADIATION PROTECTION DURING SPACE FLIGHTS

*K.A. Nikolaev, V.A. Rybachuk, A.O. Kosachenko, L.I. Shevchenko, O.V. Soldatova,
A.A. Shitova, I.K. Volkova, S.N. Korakin, A.S. Filimonov, M.V. Filimonova*

A. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research
Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia,
e-mail: nirealki@gmail.com

Summary. In the laboratory of radiation pharmacology of the A. Tsyb MRRC has developed a group of hypoxic radioprotectors with a NOS inhibitory mechanism of action, which are capable of preventing acute radiation sickness induced by high-energy proton radiation. Research is planned on the effect of one of the promising compounds on the motor and behavioral activity of laboratory animals after exposure to high-energy protons.

Key words: cosmic radiation, space flights, protons, irradiation, NOS inhibitors, radioprotectors, radiation sickness.

В процессе освоения космоса человечество сталкивается с многочисленными вызовами, среди которых особое место занимает обеспечение радиационной безопасности космонавтов и других живых организмов, задействованных в миссиях освоения ближнего и дальнего космоса. Поэтому разработка и применение средств радиационной защиты является одним из ключевых направлений космической радиобиологии.

При длительных космических полётах возникает необходимость в различных эффективных препаратах: радиопротекторах длительного действия, предназначенных для снижения влияния низких хронических доз излучения, которые должны быть не только эффективными, но и безопасными для длительного применения; радиомитигаторах, которые способствуют усилению неспецифической резистентности организма, обеспечивая более эффективное восстановление во время или после радиационного воздействия; а так же в радиопротекторах быстрого действия для экстренной защиты от высоких доз радиации при нештатных ситуациях. Однако в условиях космоса важнейшей характеристикой любого противолучевого средства является способность обеспечить необходимую защиту без снижения профессиональной работоспособности.

На сегодняшний день наилучшим для профилактики острых лучевых поражений средством, которое может использоваться в условиях космических полетов является

индралин (Б-190). Он позволяет снизить степень тяжести острой лучевой болезни в условиях воздействия протонов высоких энергий, которые могут возникать при солнечных вспышках во время межпланетного космического перелета, не снижая при этом переносимости организмом неблагоприятных факторов полета [1].

Однако его эффективные дозы близки к порогу токсических, поэтому возникает необходимость в поиске и разработке новых, не менее эффективных, но более безопасных противолучевых средств, приемлемых для условий космического полета.

В лаборатории радиационной фармакологии МРНЦ им. А.Ф. Цыба разработана группа гипоксических радиопротекторов с NOS-ингибирующим механизмом действия, способных к эффективной профилактике ОЛБ (ФИД – 1.6-1.9) при воздействии γ -излучения [2]. В настоящее время нами показано, что одно из таких соединений под условным шифром INOS-A, как при парентеральном, так и при пероральном применении, способно индуцировать транзиторную тканевую гипоксию и повышать резистентность биологических тканей к воздействию ионизирующих излучений за счет подавления эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) и блокировки эндотелий-зависимого сигнального пути релаксации сосудов (NOS/sGS/cGMP). Так, при пероральном применении в безопасных дозах (1/11 ЛД₁₀) INOS-A снижает степень тяжести острой лучевой болезни при воздействии высокоэнергетического протонного излучения (ФИД – 1.29-1.34). Это свидетельствует о целесообразности дальнейшего экспериментального изучения способности INOS-A и других аналогичных соединений, в качестве средств экстренной радиозащиты в условиях космических перелетов.

Планируются исследования влияния соединения INOS-A на двигательную и поведенческую активность лабораторных животных после воздействия протонов высоких энергий.

1. Ушаков, И.Б. Космос. Радиация. Человек (Радиационный барьер в межпланетных полетах) / И.Б. Ушаков. – Москва : Научная книга. – 2021. – 352 с.

2. Filimonova, M.V. Radioprotective activity of the nitric oxide synthase inhibitor T1023. toxicological and biochemical properties, cardiovascular and radioprotective effects / M.V. Filimonova, V.M. Makarchuk, L.I. Shevchenko [et al.] // Radiation Research. – 2020. – Vol. 194. – № 5. – P. 532-543.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНГИБИТОРА NOS INOS-A В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВА ПРОФИЛАКТИКИ ОСТРЫХ ЛУЧЕВЫХ ПОРАЖЕНИЙ КОЖИ, ИНДУЦИРОВАННЫХ ПРОТОННЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ

К.А. Николаев, В.А. Рыбачук, А.О. Косаченко, Л.И. Шевченко, О.В. Солдатова, А.А. Шитова, И.К. Волкова, С.Н. Корякин, А.С. Филимонов, М.В. Филимонова

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ НМИЦ радиологии Минздрава России, Обнинск, Россия,
e-mail: nirealki@gmail.com

Резюме. В экспериментах на мышах оценивали эффективность ингибитора NOS INOS-A, как средства профилактики лучевого поражения кожи, индуцированного протонной терапией. Показано, что превентивное внутривентральное введение ингибитора NOS INOS-A статистически значимо снижает степень тяжести острого протон-индуцированного поражения кожи, не влияя на эффективность лучевой терапии опухоли.

Ключевые слова: протонная терапия, лучевые поражения, ожог кожи, ингибиторы NOS.

STUDYING THE EFFECTIVENESS OF THE NOS INHIBITOR INOS-A AS A MEANS FOR THE PREVENTION OF ACUTE RADIATION SKIN INJURIES INDUCED BY PROTON RADIATION

K.A. Nikolaev, V.A. Rybachuk, A.O. Kosachenko, L.I. Shevchenko, O.V. Soldatova, A.A. Shitova, I.K. Volkova, S.N. Korakin, A.S. Filimonov, M.V. Filimonova

A. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia,
e-mail: nirealki@gmail.com

Summary. The efficacy of NOS inhibitor INOS-A as a means of prophylaxis of proton therapy-induced radiation skin lesions was studied in experiments on mice. It was shown that preventive intragastric administration of NOS INOS-A inhibitor statistically significantly reduces the severity of acute proton-induced skin lesions without affecting the efficacy of radiation therapy of the tumor.

Key words: proton therapy, radiation lesions, skin injury, skin burn, NOS inhibitors.

Лучевые поражения кожи являются одним из наиболее значимых побочных эффектов радиотерапии, которая используется для лечения различных онкологических заболеваний. В связи с этим, разработка стратегий для минимизации и контроля радиационно-индуцированных ожогов является важным аспектом исследования в области лучевой терапии. Однако, несмотря на значительные достижения в области радиотерапии, до сих пор не существует универсального и достаточно эффективного метода для предотвращения лучевых ожогов кожи, вызванных протонным излучением. В этом контексте, особый интерес представляет использование ингибиторов синтаза оксида азота (NOS), которые могут предложить новый подход к уменьшению риска и тяжести радиационно-индуцированных ожогов.

В лаборатории радиационной фармакологии МРНЦ им. А.Ф. Цыба была разработана группа гипоксических радиопротекторов с NOS-ингибирующим механизмом действия, способных к эффективной профилактике острой лучевой болезни при воздействии протонного и фотонного излучения.

Исследование эффективности одного из ингибиторов NOS под условным шифром INOS-A в качестве средства профилактики лучевого ожога кожи, индуцированного протонами, приобретает особую значимость, обещая новые перспективы в улучшении качества жизни пациентов, подвергающихся протонной терапии.

Цель. Оценить радиозащитные возможности ингибитора NOS INOS-A в отношении острого лучевого ожога кожи, вызванного однократным локальным протонным облучением.

Методы и материалы. Методы исследования включали изучение влияния соединения INOS-A при превентивном однократном внутривенном введении в безопасной дозе (200 мг/кг – 1/11 ЛД₁₀, за 30 мин до облучения) на степень острого лучевого ожога кожи мышей-самок линии BALB/C при локальном облучении бедра в дозах 25, 32 и 40 Гр протонами на пике Брэгга сканирующего пучка «Прометейс» (МРНЦ, Обнинск), а также оценку селективности действия соединения INOS-A на модели протонной терапии солидной карциномы Эрлиха по критериям динамики роста опухоли и острых лучевых реакций кожи. Определение степени тяжести лучевого ожога осуществлялась по классификации Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) в течение 30 дней.

Результаты. Действие вещества объективно выражено и статистически значимо ограничивало тяжесть ожога в разгар развития патологии и сопровождалось ускорением регенерации поврежденных тканей при всех использованных дозах. Тяжесть лучевого ожога у контрольных мышей достигала 3-4 степени, а у животных, получавших однократное введение изучаемого вещества, оставалась в пределах первой степени, где отмечалось лишь слабое проявление лучевой травмы в виде эпиляции.

При оценке селективности, локальное протонное облучение в дозе 40 Гр оказывало выраженное, равное по эффективности противоопухолевое действие независимо от применения исследуемого соединения. То есть соединение INOS-A при пероральном введении за 30 минут до облучения не вызывало достоверную модификацию противоопухолевых эффектов протонного излучения по отношению к солидной карциноме Эрлиха.

Заключение. Превентивное внутривенное введение ингибитора NOS INOS-A статистически значимо снижает степень тяжести острого протон-индуцированного поражения кожи, не влияя на эффективность лучевой терапии опухоли.

**ВЛИЯНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ПРЕПАРАТА МЕЛЬДОНИЯ
И ЭТИЛМЕТИЛГИДРОКСИПИРИДИНА СУКЦИНАТА НА ПОКАЗАТЕЛИ
ИММУНИТЕТА И ГЕМОПОЭЗА У МЫШЕЙ ПРИ ФРАКЦИОНИРОВАННОМ
ОБЛУЧЕНИИ**

Н.А. Обвинцева, Н.И. Атаманюк, Е.А. Пряхин

ФГБУН Уральский научно-практический центр радиационной медицины ФМБА России,
Челябинск, Россия
e-mail: n_obvintseva@mail.ru

Резюме. Цель работы состояла в оценке влияния комбинированного препарата мельдония и этилметилгидроксипиридина сукцината (торговое название - Брейнмакс®) на показатели иммунитета и кроветворения при действии фракционированного гамма-облучения в кумулятивной дозе 5 Гр (0,25 Гр на фракцию) в ранний постнатальный период у мышей линии C57Bl/6. Состояние иммунной и кроветворной системы оценивали у мышей в возрасте 30 суток по показателям количества клеток в периферической крови (лейкоциты и эритроциты), количества ядросодержащих клеток (ЯСК) в красном костном мозге, тимусе, селезёнке, а также оценивали количество гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) в костном мозге (CD117+). Четырёхкратное применение препарата Брейнмакс в раннем постнатальном периоде при фракционированном облучении привело к статистически значимому снижению количества ГСК в костном мозге, снижению количества ЯСК в тимусе, снижению количества лейкоцитов и повышению количества эритроцитов в периферической крови по сравнению с облучёнными животными, получавшими вместо Бренмакса воду для инъекций.

Ключевые слова: фракционированное облучение, мыши, брейнмакс, ядросодержащие клетки, костный мозг, гемопоэтические стволовые клетки, тимус, селезёнка.

**ASSESSMENT OF THE INFLUENCE OF BRAINMAX ON HEMATOPOISIS
INDICATORS UNDER FRACTIONATED GAMMA IRRADIATION IN THE EARLY
POSTNATAL PERIOD OF MICE**

N.A. Obvintseva, N.I. Atamanyuk, E.A. Pryakhin

Urals Research Center for Radiation Medicine, Chelyabinsk, Russia
e-mail: n_obvintseva@mail.ru

Summary. The work was aimed to evaluation the effects of a combined drug of meldonium and ethylmethylhydroxypyridine succinate (trade name - Brainmax®) on immune and hematopoietic parameters under the exposure of fractionated gamma irradiation at a cumulative dose of 5 Gy (0.25 Gy per fraction) in the early postnatal period in mice C57Bl/6. The parameters of the immune and hematopoietic systems was assessed in mice in one month after start of exposure at the age of 30 days. The number of cells in the peripheral blood (leukocytes and erythrocytes), the number of nucleated cells (NCs) in the red bone marrow, thymus, spleen, and the number of hematopoietic stem cells (HSCs) was also assessed. in the bone marrow (CD117+). Four-time application of the Brainmax during the fractionated irradiation led to a statistically significant decrease in the number of HSCs in the bone marrow, a decrease in the number of NCs in the thymus, a decrease in the number of leukocytes and an increase in the number of erythrocytes in the peripheral blood compared with irradiated animals received water for injection instead of Brainmax.

Key words: fractionated irradiation, mice, Brainmax, nucleated cells, bone marrow, hematopoietic stem cells, thymus, spleen.

Цель исследования. Изучение влияния комбинированного препарата мельдония и этилметилгидроксипиридина сукцината на показатели иммунитета и гемопоэза у мышей

при фракционированном облучении в кумулятивной дозе 5 Гр у мышей линии C57Bl/6 в раннем постнатальном периоде.

Материалы и методы. Работа была выполнена на мышах линии C57Bl/6 (питомник SPF-вивария ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск). Мышей подвергали общему внешнему гамма-облучению в кумулятивной дозе 5 Гр (20 фракций по 0,25 Гр) в течение первого месяца жизни начиная с 2-4 суток после рождения ежедневно 5 дней в неделю в течение 4 недель. Облучение проводили на установке ИГУР-1М (ЗАО «Квант»), Россия) с цезиевыми источниками, мощность дозы 0,91 Гр/мин, неравномерность гамма-поля в рабочем пространстве не более 10 %. Для облучения мышат помещали внутрь установки в домашних клетках, предварительно удаляя из них на время облучения кормящих самок.

Препарат Брейнмакс® (производитель Биохимик АО, Россия) вводили внутривбрюшинно за 30 мин до облучения в день первой экспозиции (в возрасте мышей 2-3 суток) и далее с интервалом 1 раз в неделю. Всего было выполнено 4 введения из расчёта 50 мг/кг (что соответствует 3-х кратной максимальной терапевтической дозе для человека). В качестве контроля использовали воду для инъекций по той же схеме. Всего было сформировано 5 экспериментальных группы:

Группа 1 – ложное облучение (0 Гр);

Группа 2 - ложное облучение (0 Гр) + вода для инъекций;

Группа 3 - ложное облучение (0 Гр) + Брейнмакс;

Группа 4 - фракционированное облучение в кумулятивной дозе 5 Гр;

Группа 5 - фракционированное облучение в кумулятивной дозе 5 Гр + вода для инъекций;

Группа 6 - фракционированное облучение в кумулятивной дозе 5 Гр + Брейнмакс.

При ложном облучении (0 Гр) с животными проводили аналогичные манипуляции и в том же количестве, как и при облучении, но без радиационного воздействия.

После окончания фракционированного облучения по достижению мышами возраста 30-32 суток у 16 животных из каждой группы (по 8 самцов, 8 самок) отбирали периферическую кровь из хвостовой вены для подсчета содержания лейкоцитов и эритроцитов. После проводили эктаназию изофлураном, выделяли тимус, селезенку и костный мозг из бедренных костей.

Для оценки гемопоэза и состояния иммунной системы анализировали содержание лейкоцитов и эритроцитов в периферической крови, количество ядерных клеток в селезенке, тимусе и костном мозге на гематологическом анализаторе Пикоскель ПС-4 (Medicor, Будапешт). Долю гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) в красном костном мозге определяли методом проточной цитометрии. Для мечения ГСК мыши использовали моноклональные антитела крысы против CD117 мыши (клон 2B8), меченные ФИТЦ (BD Pharmingen).

Работа выполнена в соответствии с положениями Европейской конвенции по защите позвоночных животных (1986 г., Страсбург) и одобрена Этическим комитетом Уральского научно-практического центра радиационной медицины.

Результаты и обсуждение.

Четырехкратное введение воды для инъекций являлось стрессом для животных и приводило к повышению количества ЯСК в селезенке на 85% и эритроцитов в периферической крови на 50% по сравнению с группой ложного облучения (группа 1). Четырехкратное применение препарата Брейнмакс в раннем постнатальном периоде у мышей без облучения привело к статистически значимому увеличению количества ЯСК в костном мозге на 34%, увеличению количества лейкоцитов на 18 % и снижению количества эритроцитов на 35% в периферической крови по сравнению с группой 2 (ложное облучение + вода для инъекций).

Фракционированное облучение в дозе 5 Гр через 1 мес. приводило к снижению количества ЯСК в костном мозге на 15% в селезенке на 48% и в тимусе на 63% по сравнению с группой 1 (ложное облучение). Четырехкратное применение воды при фракционированном облучении в дозе 5 Гр приводило к статистически значимым

изменениям по большинству анализируемых показателей по сравнению с группой 4 (фракционированное облучение в дозе 5 Гр): к увеличению количества ЯСК в костном мозге на 15%, в селезенке - на 202% и в тимусе – на 165%; увеличению количества лейкоцитов на 33% и снижению количества эритроцитов в периферической крови на 53%.

У животных, облучённых в кумулятивной дозе 5 Гр четырехкратное применение препарата Брейнмакс по сравнению с показателями в группе 5 (фракционированное облучение в дозе 5 Гр + вода для инъекций) привело к снижению количества ГСК на 69%, которое не сопровождалось снижением количества ЯСК в костном мозге, что вероятно свидетельствует о повышении эффективности кроветворения. При этом в периферической крови наблюдалось снижение количества лейкоцитов на 28% и повышение количества эритроцитов на 124%, что, очевидно, свидетельствует о перестройке гемопоэза в сторону эритропоэза. Кроме этого было зарегистрировано снижение количества ЯСК в тимусе у мышей из группы 6.

Вывод: применение комплексного препарата мельдония и этилметилгидроксипиридина сукцината (Брейнмакс®) оказывает модифицирующее влияние на показатели гемопоэза и иммунитета при фракционированном облучении мышей в раннем постнатальном периоде с кумулятивной дозой 5 Гр.

ПОРОГОВЫЕ ДОЗЫ ДЛЯ ОСТАТОЧНЫХ ФОКУСОВ БЕЛКОВ РЕПАРАЦИИ ДНК

A.A. Osipov¹, A.K. Chigasova^{1,2,3}, O.V. Belov^{4,5,6}, E.I. Yashkina^{1,2}, M.A. Ignatov^{1,2}, Yu.A. Fedotov^{1,3}, N.Yu. Vorobyeva^{1,2}, A.N. Osipov^{1,2}

¹Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва, Россия

²Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия

³Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия

⁴Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Московская обл., Россия

⁵Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

⁶Государственный университет «Дубна», Дубна, Московская обл., Россия
e-mail: a-2-osipov@yandex.ru

Резюме. Подсчет остаточных фокусов репарации ДНК через 24 часа и более после воздействия ионизирующего излучения (ИИ) часто используется для оценки эффективности репарации двунитевых разрывов ДНК. Однако взаимосвязь между количеством остаточных фокусов в облученных клетках и дозой облучения изучена недостаточно. Анализ данных, проведенный с использованием модели «hockey stick», показал наличие пороговой дозы для остаточных фокусов всех исследованных белков. Полученные результаты подтверждают гипотезу о нелинейном пороговом значении генотоксичности ИИ с низким ЛПЭ.

Ключевые слова: ионизирующее излучение, пороговые дозы, двунитевые разрывы ДНК, фокусы белков репарации ДНК, репарация ДНК

DOSE THRESHOLD FOR RESIDUAL DNA REPAIR FOCI

A.A. Osipov¹, A.K. Chigasova^{1,2,3}, O.V. Belov^{4,5,6}, E.I. Yashkina^{1,2}, M.A. Ignatov^{1,2}, Yu.A. Fedotov^{1,3}, N.Yu. Vorobyova^{1,2}, A.N. Osipov^{1,2}

¹N.N. Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

²State Research Center - Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia

³Institute of Biochemical Physics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

⁴Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, Moscow Region, Russia

⁵Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

⁶Institute of System Analysis and Management, Dubna State University, Dubna, Moscow Region, Russia

e-mail: a-2-osipov@yandex.ru

Summary. Enumeration of residual DNA repair foci 24 hours or more after exposure to ionizing radiation (IR) is often used to assess the efficiency of DNA double-strand break repair. However, the relationship between the number of residual foci in irradiated cells and the radiation dose is still poorly understood. The data analysis performed with the hockey stick model showed the presence of a dose threshold for the residual foci of all proteins studied. The obtained results support the nonlinear threshold hypothesis of the low-LET IR genotoxicity.

Key words: ionizing radiation, dose threshold, DNA double-strand breaks, DNA repair foci, DNA repair.

Среди различного спектра радиационно-индуцированных повреждений ДНК наиболее критичными являются двунитевые разрывы ДНК [1-3]. Точность и эффективность процесса восстановления этих повреждений фактически определяют будущую судьбу облученных клеток: обновление или ограничение пролиферации, старение и гибель [4]. Динамические микроструктуры, состоящих из сотен или тысяч

различных белков, участвующих в реакции на повреждение ДНК и локализованные в областях образования ДР ДНК, называют "фокусами репарации ДНК" [5, 6].

Фокусы, наблюдаемые через 24 часа и позже после облучения, называются "остаточными" [6, 7]. Оценка остаточных фокусов уН2АХ может служить прогностическим критерием для оценки радиационно-индуцированной гибели клеток [8, 9]. Однако данные о закономерностях изменения количества остаточных фокусов в зависимости от дозы облучения недостаточны и противоречивы. В частности, спорным является вопрос о возможном пороговом значении дозы излучения для остаточных фокусов.

Целью данного исследования было изучение дозовой зависимости остаточных фокусов уН2АХ, 53BP1, pATM и p-p53 (Ser-15) в нормальных фибробластах кожи человека через 24-72 часа после воздействия рентгеновского излучения в дозах от 0,1 до 5 Гр.

Анализ данных, выполненный с использованием модели «hockey stick», показал наличие пороговой дозы для остаточных фокусов всех исследованных белков. Дозовый порог варьировался в зависимости от времени после облучения и анализируемого белка. В частности, пороговая доза варьировалась от 1,19 (24 ч) до 1,03 (72 ч) Гр для фокусов уН2АХ, от 1,04 (24 ч) до 0,77 (72 ч) Гр для фокусов 53BP1, от 0,77 (48 ч) до 0,43 (72 ч) Гр для фокусов pATM и от 1,28 (48 h) до 0,17 (72 ч) Гр для фокусов p-p53 (Ser-15).

Кривые выживаемости клеток млекопитающих, облученных ИИ с низкой линейной передачей энергии обычно имеют «плечевую область» в диапазоне низких доз [10]. Это «плечо» обычно отражает восстановление клеток после сублетального повреждения [11], а его ширина определяется количественно-пороговой дозой (Dq) [12].

Для фибробластов, облученных рентгеновским излучением, Dq составил $0,99 \pm 0,09$ Гр, что согласуется с литературными данными [13]. Дозовый порог для остаточных фокусов репарации ДНК близок к Dq. Наилучшее соответствие между значениями дозового порога и Dq было показано для фокусов уН2АХ и 53BP1.

В целом было показано, что кривая «доза-эффект» для остаточных фокусов репарации ДНК в фибробластах человека, облученных рентгеновским излучением, имеет дозовый порог. Хорошее соответствие между рассчитанными значениями дозового порога и Dq в облученных фибробластах доказывает, что остаточные фокусы — это участки хроматина, в которых клетки все еще пытаются восстановить летальные повреждения ДНК.

Исследования выполнены при поддержке гранта РНФ № 23-14-00078.

1. Nickoloff J. A., Sharma N., Allen C. P., Taylor L., Allen S. J., Jaiswal A. S., Hromas R. Roles of homologous recombination in response to ionizing radiation-induced DNA damage // *Int J Radiat Biol.* – 2023. – Т. 99, № 6. – С. 903-914.
2. Shibata A., Jeggo P. A historical reflection on our understanding of radiation-induced DNA double strand break repair in somatic mammalian cells; interfacing the past with the present // *Int J Radiat Biol.* – 2019. – Т. 95, № 7. – С. 945-956.
3. Mladenov E., Mladenova V., Stuschke M., Iliakis G. New Facets of DNA Double Strand Break Repair: Radiation Dose as Key Determinant of HR versus c-NHEJ Engagement // *Int J Mol Sci.* – 2023. – Т. 24, № 19.
4. Krenning L., van den Berg J., Medema R. H. Life or Death after a Break: What Determines the Choice? // *Mol Cell.* – 2019. – Т. 76, № 2. – С. 346-358.
5. Penninckx S., Pariset E., Cekanaviciute E., Costes S. V. Quantification of radiation-induced DNA double strand break repair foci to evaluate and predict biological responses to ionizing radiation // *NAR Cancer.* – 2021. – Т. 3, № 4. – С. zcab046.
6. Belyaev I. Y. Radiation-induced DNA repair foci: spatio-temporal aspects of formation, application for assessment of radiosensitivity and biological dosimetry // *Mutat Res.* – 2010. – Т. 704, № 1-3. – С. 132-41.

7. Osipov A., Chigasova A., Yashkina E., Ignatov M., Fedotov Y., Molodtsova D., Vorobyeva N., Osipov A. N. Residual Foci of DNA Damage Response Proteins in Relation to Cellular Senescence and Autophagy in X-Ray Irradiated Fibroblasts // *Cells*. – 2023. – T. 12, № 8.
8. Olive P. L. Retention of gammaH2AX foci as an indication of lethal DNA damage // *Radiother Oncol*. – 2011. – T. 101, № 1. – C. 18-23.
9. Anglada T., Terradas M., Hernandez L., Genesca A., Martin M. Analysis of Residual DSBs in Ataxia-Telangiectasia Lymphoblast Cells Initiating Apoptosis // *Biomed Res Int*. – 2016. – T. 2016. – C. 8279560.
10. Domon M. A biological variability model of cell survival curves // *Radiat Res*. – 1980. – T. 82, № 3. – C. 611-5.
11. Vassiliev O. N. Accumulation of sublethal radiation damage and its effect on cell survival // *Phys Med Biol*. – 2022. – T. 68, № 1.
12. Bloomer W. D., Adelstein S. J. The mammalian radiation survival curve // *J Nucl Med*. – 1982. – T. 23, № 3. – C. 259-65.
13. Miller R. C., Enno M., Yamane M., Nishiki M. Recovery from X-ray induced damage in primary cultures of human skin fibroblast cells // *J Radiat Res*. – 1985. – T. 26, № 3. – C. 339-45.
14. C. 339-45.

ИССЛЕДОВАНИЕ И ТЕРАПИЯ ИЗМЕНЕНИЙ В ДОФАМИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЕ ГРЫЗУНОВ, ВОЗНИКАЮЩИХ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ПУЧКА ИОНОВ ^{12}C , МОДЕЛЬНОЙ МИКРОГРАВИТАЦИИ И ХРОНИЧЕСКОГО ГАММА-ОБЛУЧЕНИЯ

А.А. Перевезенцев, Вик.В. Яснецов, К.Б. Лебедева-Георгиевская, А.С. Штемберг
Государственный научный центр РФ – Институт медико-биологических проблем РАН
e-mail: perezx@me.com

Резюме. В серии работ на крысах и мышах показано, что наиболее значимым эффектом воздействия модельных факторов дальнего космического полета (хронических гамма-облучения и АНОВ и воздействия пучка ионов ^{12}C в масштабах, имитирующих полет на Марс) является изменение метаболизма нейромедиаторов, в первую очередь дофамина, в головном мозге, которое наблюдается на всех уровнях организации ЦНС и может быть частично компенсировано введением в рацион фолиевой кислоты, важного элемента этого метаболизма.

Ключевые слова: космическая радиация, головной мозг, нейрохимия, поведение, грызуны.

RESEARCH AND THERAPY OF DEVIATIONS IN DOPAMINERGIC SYSTEM OF RODENTS INDUCED BY ^{12}C ION BEAM, MODEL MICROGRAVITY AND CHRONIC GAMMA IRRADIATION

A.A. Perevezentsev, Vic.V. Yasnetsov, K.B. Lebedeva-Georgievskaya, A.S. Shtemberg
State Science Center of RF – Institute of biomedical problems of RAS
e-mail: perezx@me.com

Summary. In several studies on rats and mice we discovered that the most significant effect of exposure to model factors of long-distance space flight (chronic gamma irradiation combined with AOS and exposure to a beam of ^{12}C ions in a dose simulating a flight to Mars) is a deviation in the metabolism of neurotransmitters, primarily dopamine, in brain, which is observed at all levels of the central nervous system and can be partially compensated by dietary introduction of folic acid, an important element of this metabolism.

Key words: space radiation, brain, neurochemical, behavior, rodents.

Одним из основных лимитирующих – и одновременно недостаточно изученных – факторов межпланетного космического полета является воздействие на организм космонавтов солнечных и галактических космических лучей, представленных протонами и тяжелыми заряженными частицами (ТЗЧ). В то время, как гамма-излучение несет преимущественно стохастический риск отдаленных последствий, воздействие ТЗЧ вызывает гибель клеток и немедленные изменения в функционировании, в частности, нервной системы. Соответственно, актуальны как оценка, так и минимизация этих изменений, потенциально несущих угрозу работоспособности экипажа [1].

Отделом космической радиобиологии и фармакологии ИМБП РАН в результате серии исследований разработана уникальная модель, имитирующая синхронное воздействие нескольких факторов полета на организм крыс или мышей: гамма-облучения организма в дозе 1.2 Гр с одновременным антиортогостатическим вывешиванием продолжительностью 7 дней и облучением ионами углерода ^{12}C (450 МэВ/н) либо протонами высоких энергий в дозе 0.8 Гр, что, с учетом видовой специфики, соответствует дозам Марсианской миссии[2].

В наших работах на самцах крыс линии Long Evans было показано, что у опытных животных наблюдаются изменения на всех уровнях организации ЦНС. В частности, в тесте «У-лабиринт», включающем в себя выработку УРАИ совместно с пространственным ориентированием, в ходе и непосредственно после воздействий количество верных

реакций снижается на 25-50%, при этом время избавления при подаче негативного подкрепления растет незначительно, т.е. сбой происходит в части рефлекторной, а не когнитивной деятельности. Исследование концентрации ключевых нейромедиаторов – НА, ДА, 5ОТ – и их метаболитов показало, что в основе поведенческих изменений лежит сдвиг в метаболизме дофамина, в частности, ускорение метаболизма по линии ДОФУК, которое наблюдается также спустя 4 месяца после воздействия.[3]

Одним из ключевых элементов метаболизма ДА является тетрагидробиоптерин (ТГБП), кофермент, участвующий в синтезе тирозина и ДОФА и являющийся составной частью молекулы фолиевой кислоты (ФК). Было выдвинуто предположение, что искусственное повышение уровня ТГБП посредством включения фолиевой кислоты в рацион позволит нормализовать метаболизм дофамина и реакции нервной системы.

В ходе исследований на самцах мышей линии BALB/C животные, разделенные на две группы, были подвергнуты одинаковым воздействиям, но группа «опыт» получала питье, обогащенное ФК в такой концентрации, чтобы суточная доза ФК, потребляемая мышью, составила 1 мг/кг массы тела. Животные (n=10) были чипированы и помещены в установки IntelliCage, позволявшие проводить обучение и тестирование непосредственно в ходе воздействия. Животные, получавшие ФК, проявляли большую исследовательскую активность и быстрее обучались находить «правильные» полки.

В ходе аналогичного исследования на крысах было задействовано три группы (n=8): «контроль», «воздействия» и «воздействия + ФК». В тесте «У-лабиринт», выполненном сразу после воздействий, группа «воздействия» показала падение числа верных реакций на 50%, а группа «воздействия + ФК» - только на 15% относительно группы «контроль». Среднее время теста составило 8.5, 5.5 и 4.9 секунд соответственно.

В результате нейрохимических исследований установлено, что животные, подвергнутые воздействиям, имеют повышенный на 20-40% относительно интактных уровень ДА в таламусе и гипоталамусе; в то же время у животных, получавших ФК, уровень ДА повышен всего на 5-10% (p=0.05).

Исследование экспрессии генов, связанных с дофаминергической системой, выявило у тех же животных компенсаторный эффект ФК относительно уровней дофаминового транспортера DAT и рецептора D1 в гипоталамусе, D1 и серотонинового рецептора 5HT1a в гиппокампе, а также гиперкомпенсацию уровня DAT в гиппокампе и префронтальной коре.

Как следствие, можно констатировать, что нарушения в работе ЦНС, вызванные модельными факторами космического полета, затрагивают эмоционально-мотивационный аспект работы мозга, имеют в основе изменения в метаболизме дофамина в структурах древнего мозга и могут подвергаться терапии медикаментозными препаратами, в частности – фолиевой кислотой.

1. Rabin B.M., Joseph J.A., Shukitt-Hale B. Heavy particle irradiation, neurochemistry and behavior: threshold, dose-response curves and recovery of function. // *Adv. Space Res.* 2004. № 33. P 1330-1333.
2. Kokhan V.S., Lebedeva-Georgievskaya K.B., Kudrin V.S., Bazyan A.S., Maltsev A.V., Shtemberg A.S. An investigation of the single and combined effects of hypogravity and ionizing radiation on brain monoamine metabolism and rats' behavior. // *Life Sciences in Space Research.* 2019. V. 20. № 1. P. 12-19.
3. Перевезенцев, А. А., Лебедева-Георгиевская, К. Б., Кузнецова, О. С., Кудрин, В. С., Пикалов, В. А., & Штемберг, А. С. (2023). Нейробиологические эффекты комбинированного действия антиортогостатического вывешивания, квазихронического гамма-излучения и ионов углерода у крыс. *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*, 109(3), 348–365. <https://doi.org/10.31857/S086981392303007X>

КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ И ЕСТЕСТВЕННЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ПРЕСНОВОДНЫХ МОЛЛЮСКОВ

А.А. Перетыкин, Е.А. Пряхин

ФГБУН Уральский научно-практический центр радиационной медицины
ФМБА России, Челябинск, Россия

Резюме. К настоящему времени реакция сообществ моллюсков на радиоактивное загрязнение в условиях воздействия комплекса естественных и антропогенных факторов в природных пресноводных экосистемах детально не изучена. Проанализированы данные по видовому составу двустворчатых и брюхоногих моллюсков, обитающих в специальных промышленных водоемах ПО «Маяк» (В-3, В-4, В-10, В-11, В-17) которые имеют разный уровень радиационного, химического и органического загрязнения, и используются в качестве хранилищ жидких радиоактивных отходов. В качестве водоемов сравнения использовали Шершневское водохранилище, Челябинская область – с фоновым содержанием антропогенных радионуклидов.

Ключевые слова: двустворчатые моллюски, брюхоногие моллюски, зообентос, пресноводные экосистемы, мощность дозы, радионуклиды, хроническое радиационное воздействие

THE COMBINED EFFECT OF IONIZING RADIATION AND NATURAL ENVIRONMENTAL FACTORS ON FRESHWATER MOLLUSKS OF RESERVOIRS-STORAGE OF LIQUID RADIOACTIVE WASTE

A.A. Peretykin, E.A. Pryanin

Urals Research Center for Radiation Medicine, Chelyabinsk, Russia

Summary. The response of mollusks' communities to radioactive contamination under the influence of a complex of natural and anthropogenic factors in natural freshwater ecosystems is not clear to date. We have analyzed the data on species composition of bivalve and gastropod mollusks in the Mayak PA special industrial reservoirs (R-3, R-4, R-10, R-11, R-17) which have different levels of radiation, chemical and organic pollution, and are used as storages of liquid radioactive waste, are analyzed. Also we studied comparison water body with background content of anthropogenic radionuclides – the Shershnevsky Reservoir, Chelyabinsk.

Key words: bivalves, gastropods, zoobenthos, freshwater ecosystems, dose rate, radionuclides, chronic radiation exposure.

При изучении зообентоса радиоактивно-загрязненных водоемов «ПО «Маяк» ранее было выявлено резкое снижение биомассы или полное отсутствие мелких двустворчатых моллюсков. В связи с этим, была поставлена цель: изучить влияние хронического радиационного воздействия на малакофауну в сочетании с естественными факторами среды.

Анализ видового состава двустворчатых и брюхоногих моллюсков в радиоактивно-загрязненных водоемах ПО «Маяк», которые также представляют собой водохранилища, сформированные на р. Теча, показывает, что в водоеме В-11 малакофауна двустворчатых находится в крайне угнетенном состоянии по сравнению с Шершневским водохранилищем (водоемом сравнения), при этом химический состав воды, а также органическое загрязнение этих двух водоемов сопоставимы по величине, за исключением более высокого содержания сульфатов в водоеме В-11 и радиоактивного загрязнения [1, 2]. Здесь количество видов живородящих моллюсков, которые в течение всего жизненного цикла обитают на дне было в 3 раза меньше, чем в водоеме сравнения: количество видов живородящих двустворчатых моллюсков было снижено в 10 раз; в 2 раза было снижено количество видов живородящих брюхоногих моллюсков. Во всех других радиоактивно-

загрязненных водоемах с более высоким уровнем радиационного воздействия двустворчатые и брюхоногие живородящие моллюски отсутствовали. При этом живородящие двустворчатые и брюхоногие моллюски, у которых личиночные стадии ведут планктонный или паразитический образ жизни (двустворчатые моллюски *S. anatinum*), и у которых, соответственно, радиационное воздействие было меньше на ранних стадиях развития, выжили в водоемах В-11, В-10, В-4.

Антропогенное воздействие на водоемы Теченского каскада характеризуется высоким содержанием радионуклидов в воде и донных отложениях. Дозиметрические расчеты, выполненные с применением пакета ERICA ASSESSMENT TOOL, показали, что мощность доз для различных групп моллюсков, обитающих в исследуемых водоемах ПО «Маяк» были в диапазоне 6 – 14 мГр/сут в водоеме В-11, далее в порядке возрастания радиационного воздействия следует водоем В-10 от 16 до 40 мГр/сут. В водоеме В-4 мощности дозы для моллюсков находились в диапазоне от 37 до 73 мГр/сут; в водоеме В-3 – от 49 до 72 мГр/сут; в водоеме В-17 расчетные мощности доз были от 1270 до 2370 мГр/сут.

Кроме радиоактивного загрязнения специальные промышленные водоемы ПО «Маяк» характеризуются химическим загрязнением. Водоемы Теченского каскада и водоем сравнения по уровню минерализации воды относятся к пресным, а водоемы В-17 солоноватым. Особенности химического состава воды водоемов В-11 и В-10 является повышенное содержание сульфат-ионов (500 мг/л и 300 мг/л соответственно); для водоемов В-17 характерно высокое содержание нитрат-ионов в воде (2500 мг/л); для водоемов В-10 и В-4 характерно повышенное содержание органических веществ, о чем свидетельствует повышение показателей перманганатной и бихроматной окисляемости, БПК₅, концентрации фосфатов [3].

Другим фактором, оказывающим неблагоприятное действие на моллюсков в водоемах В-4 и В-10, является загрязнение водоемов органическими веществами. Органическое загрязнение (в результате ускоренного антропогенного эвтрофирования) вызывает у моллюсков морфологические аберрации (вмятины или складки на раковине, коралловидные и жемчужные образования на замочных площадках и зубах, которые могут нарушать их жизнедеятельность [4]. Нитраты, нитриты и фосфаты могут оказывать токсическое действие на моллюсков, при этом, более чувствительными к токсическому действию этих веществ являются двустворчатые моллюски семейства униионид (из моллюсков, зарегистрированных в водоемах Теченского каскада к этому семейству относятся *S. anatinum*), менее чувствительны – брюхоногие моллюски и двустворчатые семейства шаровок. Кроме того, органическое загрязнение Шершневского водохранилища, где был идентифицирован 21 вид двустворчатых моллюсков, сопоставимо и даже превышает уровень органического загрязнения водоема В-11, где было выявлено только 3 вида этих животных.

Таким образом, маловероятно, что последствия органического загрязнения в виде высокого содержания нитратов, нитритов и фосфатов являются причиной отсутствия мелких пелофильных моллюсков в водоемах В-10 и В-4: для органического загрязнения была бы более вероятной гибель беззубок, а не шаровок.

Другим важным аспектом, связанным с органическим загрязнением, является массовое развитие цианобактерий, которые могут приводить к развитию гипоксии в придонных слоях воды, кроме того, они содержат цианотоксины, которые могут оказывать неблагоприятное действие на моллюсков. В 2014-2016 гг. в водоеме В-4 доминировали цианобактерии вида *Microcystis aeruginosa*, а в водоеме В-10 – вид *Oscillatoria agardhii*. В летний период регистрировались очень низкие значения концентрации кислорода в придонных слоях воды, вызывавшие замор рыб.

Кроме антропогенного радиоактивного и химического загрязнения причинами снижения видового разнообразия двустворчатых моллюсков могут быть их болезни, вызываемые патогенными для моллюсков вирусами, бактериями, грибами, простейшими,

многоклеточными паразитами. Моллюски подвержены широкому спектру инфекционных болезней (эпизоотий), которые могут приводить к изменению поведения животных, их иммунологической реактивности, физиологии и, таким образом, являться причиной существенного изменения популяционных показателей, изменения видового состава и количественного развития моллюсков в водоемах. Однако особенностью эпизоотической гибели моллюсков является видоспецифичность. Если бы этот фактор являлся доминирующей причиной гибели моллюсков, наблюдалось бы выпадение некоторых видов, а не нескольких семейств двустворчатых и брюхоногих моллюсков, существенно различающихся по биологическим признакам.

Моллюски являются одними из радиорезистентных гидробионтов, однако при изучении биоценозов водоемов ПО «Маяк» наиболее выраженные изменения в сообществах гидробионтов были выявлены именно в сообществах пелофильных моллюсков. Было показано, что водоем В-11 по показателям состояния сообществ фитопланктона, зоопланктона, высшей водной растительности, состоянию популяций хирономид и олигохет, обитающих на дне, очень близок по структуре с водоемом сравнения – Шершневым водохранилищем. Водоем В-11 является единственным радиоактивно-загрязненным водоемом в Теченском каскаде, у которого органическое загрязнение меньше чем в водоеме сравнения, за все время эксплуатации с 1965 г. уровень рН воды в водоеме существенно не меняется, химический состав воды по большинству показателей не превышает ПДК для водоемов рыбохозяйственного назначения. Эпизоотии у моллюсков не могли привести к гибели одновременно и брюхоногих и двустворчатых моллюсков. Таким образом, основным фактором, определяющим различия абиотических компонентов экосистем в водоеме В-11 и водоема сравнения (Шершневого водохранилища) является радиоактивное загрязнение водоема В-11. Это позволяет сформулировать гипотезу, что основным фактором, определяющим снижение видового разнообразия моллюсков в радиоактивно-загрязненных водоемах ПО «Маяк» является хроническое радиационное воздействие, вероятно в сочетании с действием других факторов.

1. Пряхин Е.А., Тряпицына Г.А., Дерябина Л.В. и др. Современное состояние экосистем водоёмов В-11, В-10, В-4, В-17 и В-9 ПО "Маяк" // Вопросы радиац. безопасности. – 2011. – Спецвыпуск 2. – С. 5–23.
2. Pryakhin E.A., Tryapitsina G.A., Osipov et al.// Characterization of biocenoses in the storage reservoirs of liquid radioactive wastes of Mayak PA. initial descriptive report// Journal of Environmental Radioactivity. - 2016. Т. 151. С. 449-460.
3. Пряхин Е.А., Тряпицына Г.А., Осипов Д.И. и др. // Биоценозы водоёмов Теченского каскада // Вопросы радиационной безопасности № 4, 2018. С. 71-79.
4. Андреев Н.И., Андреева С.И., Красногорова А.Н. Изменчивость таксономических признаков двустворчатых моллюсков в условиях загрязнения водоемов. // В книге: Проблемы экологии: чтения памяти профессора М. М. Кожова // Тезисы докладов Международной научной конференции и Международной школы для молодых ученых. Печатается по решению Ученого Совета НИИ биологии при ИГУ. 2010. С. 374.

РЕЗИСТЕНТНЫЕ К ОБЛУЧЕНИЮ НА ГАММА-НОЖЕ КЛЕТКИ ГЛИОБЛАСТОМ ЧЕЛОВЕКА

А.А. Пиневиц^{1,2}, И.Ю. Крутецкая¹, Н.Л. Вартамян¹, М.П. Самойлович^{1,2}

¹Российский научный центр радиологии и хирургических технологий
им. акад. А.М. Гранова, Санкт-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия
e-mail: agniapinevich@gmail.com

Резюме. Показано, что радиочувствительность глиобластом человека линий A172, R1, T2, T98G и наличие в них высоко радиорезистентных клеток, приводящих к рецидивам, являются независимыми показателями, которые необходимо учитывать при планировании стратегии лечения пациентов. Выявлено усиление экспрессии PD-L1 и PD-L2 в резистентных клетках, что указывает на перспективность испытания блокаторов этих биомаркеров в качестве средств, способствующих преодолению резистентности в терапии глиобластом.

Ключевые слова: глиобластома, A172, R1, T2, T98G, облучение, Гамма-нож

HUMAN GLIOBLASTOMA CELLS RESISTANT TO GAMMA KNIFE IRRADIATION

A.A. Pinevich^{1,2}, I.Yu. Krutetskaya¹, N.L. Vartanyan¹, M.P. Samoilovich^{1,2}

¹Acad. A.M. Granov Russian Research Center for Radiology and Surgical Technologies,
St. Petersburg, Russia

²St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia
e-mail: agniapinevich@gmail.com

Summary. Radiosensitivity of human glioblastoma cell lines A172, R1, T2, T98G and the presence of highly radioresistant cells, leading to relapses, are independent indicators that must be taken into account when planning a treatment strategy for patients. The increased expression of PD-L1 and PD-L2 in resistant cells was revealed, which indicates the prospects of using inhibitors of these biomarkers as means to overcome resistance in glioblastoma therapy.

Key words: glioblastoma, A172, R1, T2, T98G, irradiation, Gamma knife

Глиобластомы – злокачественные новообразования головного мозга, отличающиеся гетерогенностью и практически всегда рецидивирующие, несмотря на хирургическое лечение, лучевую терапию и химиотерапию. Основным источником рецидивов служат клетки, резистентные к облучению и/или химиотерапии, которые не прекращают или со временем возобновляют пролиферацию в ходе терапии и формируют популяции клеток-потомков. В отличие от многократного фракционного облучения на линейном ускорителе, аппарат Гамма-нож позволяет провести прецизионное облучение опухоли малого объема в высокой дозе.

Целью работы являлось выделение наиболее резистентных к облучению клеток глиобластом и исследование их свойств.

В работе были использованы четыре клеточные линии глиобластом человека. Линии A172 и T98G давно используют в экспериментах, линии R1 и T2 выделены и охарактеризованы недавно. Клетки культивировали в 24-луночных планшетах до достижения 70–90% конфлюентного монослоя и облучали в широком диапазоне доз (6–16 Гр) на аппарате Гамма-нож, используя устройство, предназначенное для фиксации и позиционирования клеточных культур при прецизионном облучении (патент на изобретение №2778859). Облученные клетки рассеивали в 96-луночные планшеты и культивировали в течение шести недель. В ходе культивирования определяли число КОЕ, образовавшихся после облучения, и оценивали время удвоения численности популяций клеток. Резистентные клетки наращивали для дальнейших исследований. В потомках

резистентных клеток оценивали экспрессию генов, принимающих участие в формировании резистентности и прогрессии опухолей.

В культурах интактных клеток глиобластом наибольшее содержание КОЕ было выявлено в линии A172 – 47%, наименьшее – в линии T2, где на каждые 100 клеток приходилось 3,75 КОЕ. Для линии R1 этот показатель составлял 9%, для T98G – 24,2%. В течение двух недель после облучения во всех культурах глиобластом при всех использованных дозах облучения происходила массовая гибель клеток. Облучение культур глиобластом в дозах, близких к ЛД50, резко снижало количество КОЕ, однако дальнейшее увеличение доз облучения не изменяло частоты выявляемых КОЕ. Так, для клеток A172 после облучения в дозах 9–13 Гр частота КОЕ составила 4–9 на 10^6 облученных клеток. При увеличении дозы облучения возрастало время от момента облучения до формирования колоний. В интактных культурах A172 это время составляло 8 суток, после облучения в дозе 8 Гр – 14 суток, после облучения в дозах 9 и 10 Гр – увеличивалось до 18 суток, а при более высоких дозах – до 34 суток.

Наибольшей радиочувствительностью обладали линии A172 и R1. После облучения в дозах 8–15 Гр в культурах сохранялись одиночные высоко резистентные клетки. Пролиферация этих клеток после облучения в дозе 9 Гр приводила к восстановлению исходной численности популяций к концу шестой недели культивирования. После облучения в дозах 10–11 Гр пролиферация резистентных клеток замедлялась и не приводила к полному восстановлению численности исходных популяций.

После облучения клеток линии T2 в дозах 10–15 Гр также сохранялись одиночные жизнеспособные резистентные клетки. За счет их пролиферации численность популяций восстанавливалась до исходного уровня спустя шесть недель после облучения в дозе 10 Гр или оставалась неизменной в результате баланса пролиферации и гибели клеток после облучения в дозах 11–12 Гр.

Линия T98G была наиболее радиорезистентной. Начиная с 14 суток культивирования возобновлялась пролиферация резистентных клеток, облученных в дозах 12 и 13 Гр, а начиная с 21 суток – клеток, облученных в дозе 15 Гр. Пролиферация резистентных клеток приводила к полному восстановлению численности популяций к концу шестой недели культивирования.

Линии глиобластом T2 и T98G имели базово высоко активный ген *MGMT*, который кодирует белок, регулирующий радиорезистентность клеток за счет репарации повреждений ДНК, вызванных облучением. Экспрессия гена *MGMT* в потомках резистентных клеток этих линий оставалась на том же уровне, что и в интактных клетках. В потомках резистентных клеток линий A172 и R1 активность гена *MGMT* была ниже, чем в интактных клетках. Среди генов ростовых факторов в интактных клетках наибольшим уровнем экспрессии отличались *TGFβ* и *VEGF*. В резистентных клетках линии T2 увеличивался уровень экспрессии обоих генов. Также в резистентных клетках всех линий, за исключением A172, возрастала активность гена, кодирующего HGF, который стимулирует пролиферацию опухолевых клеток. В резистентных клетках линии T2 существенно возрастал уровень экспрессии гена, кодирующего фермент MMP2, который способствует метастазированию опухолевых клеток за счет деградации компонентов межклеточного вещества. В резистентных клетках линий T2 и T98G возрастала активность генов, кодирующих FAP и TNC, повышенный уровень экспрессии которых коррелирует с более агрессивным течением заболевания. Полученные результаты подтверждают высокую гетерогенность глиобластом и разнообразие механизмов их резистентности к терапии.

Вопреки ожиданиям, уровень экспрессии генов, кодирующих IL-6 и IL-8, рассматриваемых в качестве потенциальных прогностических биомаркеров течения заболевания, оставался в резистентных клетках исследованных линий на прежнем уровне, за исключением линии T2, в которой он многократно возрастал. Наконец, активность

генов иммунологических контрольных точек PD-L1 и PD-L2, способствующих проявлению анергии в отношении опухолей, возрастала в резистентных клетках исследованных линий глиобластом, особенно линии T98G, которая обладала наибольшей радиорезистентностью. Полученные результаты свидетельствуют о потенциальной прогностической значимости этих биомаркеров и возможности их использования в качестве средств преодоления резистентности клеток глиобластом.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ РАЗДЕЛЬНОГО И СОЧЕТАННОГО ДЕЙСТВИЯ ОБЛУЧЕНИЯ И СВИНЦА НА АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС ЯЧМЕНЯ

*А.А. Празян, А.С. Смирнова, А.С. Ханова, С.В. Битаршвили,
Е.М. Шестерикова, Е.С. Макаренко, М.А. Лыченкова, С.А. Гераськин*

Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Обнинск, Россия
e-mail: prazyana@yahoo.com

Резюме. Исследование направлено на анализ влияния γ -излучения и свинца антиоксидантный статус проростков ячменя. Свинец увеличивал активность каталазы в корнях, но не в побегах. Активность аскорбатпероксидазы в побегах повышалась при воздействии обоих факторов. Гваяколовая пероксидаза не изменяла активность. Концентрации МДА увеличивались в корнях и побегах под воздействием свинца, но снижались в побегах γ -облученных растений.

Ключевые слова: каталаза, ячмень, аскорбатпероксидаза, сочетанное действие, гваяколовая пероксидаза.

EVALUATION OF THE EFFECTS OF SEPARATE AND COMBINED IRRADIATION AND LEAD ACTION ON THE ANTIOXIDANT STATUS OF BARLEY

*A.A. Prazyan, A.S. Smirnova, A.S. Khanova, S.V. Bitarishvili,
E.M. Shesterikova, E.S. Makarenko, M.A. Lyshenkova, S.A. Geras'kin*

Russian Research Institute of Radiology and Agroecology, National Research Center "Kurchatov Institute", Obninsk, Russia
e-mail: prazyana@yahoo.com

Summary. The study aims to analyze the influence of γ -radiation and lead on the antioxidant status of barley seedlings. Lead increased catalase activity in roots but not in shoots. Ascorbate peroxidase activity in shoots increased under both factors. Guaiacol peroxidase activity remained unchanged. Malondialdehyde concentrations increased in roots and shoots under lead exposure but decreased in shoots of γ -irradiated plants.

Key words: catalase, barley, ascorbate peroxidase, Combined action, Guaiacol peroxidase.

Растения часто подвергаются одновременному воздействию различных стрессоров, что может изменять их реакцию на каждый из них. Исследования показывают, что предварительное облучение семян малыми дозами может повысить устойчивость растений к тяжелым металлам. Неопределенность в реакциях растений на сочетанное воздействие факторов разной природы представляет проблему для практики предпосевного облучения семян, особенно при их последующем высеве в загрязненные почвы.

Исследование направлено на анализ влияния отдельного и сочетанного воздействия γ -излучения и свинца на антиоксидантный статус проростков ячменя, что важно для понимания устойчивости растений к техногенным стрессорам.

В качестве объекта исследования был выбран ячмень яровой (*Hordeum vulgare* L.) сорта Нур первой репродукции.

Воздушно-сухие семена облучали дозой 20 Гр, мощность дозы 60 Гр/ч на установке ГУР-120 (60Со) (НИЦ «Курчатовский институт» – ВНИИРАЭ, Обнинск).

Свинец в виде соли $Pb(NO_3)_2$ добавляли в воду при проращивании семян в концентрации 2 мг/мл в пересчете на ионы Pb. В контрольном варианте необлученные семена замачивали в дистиллированной воде. Сразу после облучения семена замачивали в рулонах из фильтровальной бумаги. Всего было использовано 1200 семян, по 3 рулона на каждый вариант эксперимента (контрольный, $Pb(NO_3)_2$, облучение 20 Гр, сочетанное

действие облучения и свинца). Рулоны сворачивали, ставили в стаканы с дистиллированной водой с добавлением $Pb(NO_3)_2$ или без и помещали в термостат MIR-254 (Sanyo, Япония) при температуре $20\text{ }^\circ\text{C} \pm 0.5\text{ }^\circ\text{C}$ без освещения. Образцы корней и побегов для биохимического анализа отбирали на стадии 7-дневных проростков, помещали в криобрирки и фиксировали в жидком азоте до анализа.

Полученные экстракты анализировали на спектрофотометре NanoDrop OneC (Thermo Fisher Scientific, США).

Активность каталазы, гваяколовой пероксидазы, аскорбатпероксидазы определяли по методике [1] с модификациями.

Анализ содержания МДА в ростках и корнях ячменя проводили спектрофотометрическим согласно рекомендациям [2] с модификациями.

Статистическую обработку результатов анализа активности ферментов, концентраций низкомолекулярных антиоксидантов и МДА выполняли в программах Statistica («StatSoft, Inc.», США) и MS Office Excel с использованием непараметрического U-теста Манна-Уитни.

В побегах ячменя активность каталазы не отличалась от контрольного уровня после воздействия свинца и γ -излучения, как раздельного, так и сочетанного. В корнях ячменя активность каталазы значительно увеличивалась после воздействия свинца, однако, оставалась ниже, чем в побегах.

В побегах ячменя активность аскорбатпероксидазы значительно превышала контрольный уровень при воздействии свинца и γ -излучения. Максимальная активность аскорбатпероксидазы наблюдалась в побегах после γ -облучения, что статистически значимо превышало активность при сочетанном действии свинца и γ -излучении.

В корнях ячменя увеличение активности аскорбатпероксидазы не было значимым, несмотря на широкий диапазон изменений при воздействии свинца.

Активность гваяколовой пероксидазы в побегах и корнях не изменялась ни при раздельном, ни при сочетанном воздействии свинца и γ -излучения.

Концентрация МДА в корнях и побегах проростков, выращенных в растворе соли свинца, была значительно выше по сравнению с контролем и образцами γ -облученных растений и пророщенных на дистиллированной воде.

В побегах γ -облученных растений уровень МДА был ниже контрольного.

Концентрация МДА в корнях была примерно в два раза выше, чем в побегах, что соответствует более высокой концентрации свинца в корнях по сравнению с побегами.

Исходя из полученных данных можно сделать вывод, что свинец оказывает значительное воздействие на окислительный статус растений ячменя, вызывая увеличение активности антиоксидантных ферментов и концентрации МДА, особенно в корнях. γ -облучение семян способствует повышению активности антиоксидантных ферментов в побегах и снижению уровня МДА, что может указывать на его защитный эффект против окислительного стресса, вызванного свинцом.

Сочетанное воздействие свинца и γ -излучения демонстрирует антагонистическое взаимодействие в отношении аскорбатпероксидазы, что подчеркивает сложный характер взаимодействия различных стрессоров.

1. Биссвенгер Х. Практическая энзимология. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2013. 328 с.
2. Zhang Z., Huang R. Analysis of malondialdehyde, chlorophyll proline, soluble sugar, and glutathione content in Arabidopsis seedling // Bio Protocol. 2013. V. 3. Issue 14. e817

ВЛИЯНИЕ ЛИПОСОМАЛЬНОГО рчАФП НА СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ПРИ РАДИАЦИОННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

Е.А. Прыхин¹, Н.И. Атаманюк¹, Н.А. Обвинцева¹, Ю.И. Остроумов¹, П.С. Шмелин²

¹Уральский научно-практический центр радиационной медицины ФМБА России, Челябинск, Россия

²ООО "НПЦ Био-НТ", Москва, Россия
e-mail: pryakhin@urcrm.ru

Резюме. Применение липосомального рекомбинантного альфа-фетопротейна человека (рчАФП) до или после острого гамма-облучения приводит к повышению выживаемости гемопоэтических стволовых клеток, регистрируемых в модели эндотеста. Применение липосомального рчАФП для лечения радиационных ожогов кожи приводит к увеличению выживаемости стволовых клеток эпидермиса в зоне лучевого ожога кожи. Показана возможность применения данного лекарственного препарата для повышения выживаемости стволовых клеток до и после радиационного воздействия.

Ключевые слова: облучение, рчАФП, гемопоэтические стволовые клетки, стволовые клетки эпидермиса, эндотест, лучевой ожог кожи

THE EFFECT OF LIPOSOMAL rhAFP ON STEM CELLS UNDER RADIATION EXPOSURE

E.A. Pryakhin¹, N.I. Atamanyuk¹, N.A. Obvintseva¹, Yu.I. Ostroumov¹, P.S. Shmelin²

¹Ural Research Center for Radiation Medicine, Chelyabinsk, Russia

²LLC "RPC Bio-NT", Moscow, Russia
e-mail: pryakhin@urcrm.ru

Summary. The use of liposomal recombinant human alpha-fetoprotein (rhAFP) before or after acute gamma irradiation leads to an increase in the survival of hematopoietic stem cells registered in the endotest model. The use of liposomal rhAFP for the treatment of radiation burns of the skin leads to an increase in the survival of epidermal stem cells in the area of radiation burns of the skin. The possibility of using this drug to increase the survival of stem cells before and after radiation exposure has been shown.

Key words: irradiation, rhAFP, hematopoietic stem cells, epidermal stem cells, endotest, radiation skin burn

В настоящее время расширение применения технологий радиационной медицины, радиационные инциденты, повышение вероятности применения ядерного оружия и радиационного терроризма делают необходимым разработку новых эффективных средств профилактики и лечения радиационных поражений.

Цель работы – оценка влияния липосомального рчАФП на стволовые клетки при радиационном поражении в эксперименте.

В экспериментах использовали рчАФП производства ООО «НПП «Ферментные технологии». Липосомальный рчАФП содержал 1 мг/мл рчАФП и 10 мг/мл фосфолипидов (Lipoid S80) (исключительные права на липосомальный рчАФП и способ его применения для лечения костномозговой формы острого лучевого синдрома и радиационных поражений кожи принадлежат ФГБУН УНПЦ РМ ФМБА России [1-3]).

Влияние рчАФП на выживаемость стволовых клеток при радиационном воздействии оценивали в модели эндотеста по количеству КОЕс в селезенке после острого гамма-облучения и в модели радиационного ожога кожи по изменению количества стволовых клеток, идентифицируемых иммуногистохимическим методом с использованием антител CD34 [4].

При введении рЧАФП за 30 мин. до облучения в дозе 10 мг/кг (в пересчете на рЧАФП) выживаемость ГСК была выше в 5 раз, по сравнению с выживаемостью этих клеток в группе, где мышам вместо рЧАФП вводили воду для инъекций: количество КОЕ в селезенке при введении воды и облучении в дозе 4,5 Гр составило $4,9 \pm 0,6$ колоний на селезенку, масса селезенки $35,4 \pm 2,0$ мг; в группе с рЧАФП количество КОЕс составило $24,5 \pm 2,7$ колоний, масса селезенки 57 ± 3 мг. В этом эксперименте эффект рЧАФП по показателям выживаемости КОЕс и массы селезенки был более выражен, чем при применении по такой же схеме меркамина в дозе 205 мг/кг (количество КОЕс – $20,3 \pm 2,7$, масса селезенки – 52 ± 4 мг).

В 3-х независимых экспериментах: в 1 серии экспериментов на линейных мышах C57Bl/6 и 2-х сериях, выполненных на беспородных мышах стока CD1, было выявлено почти 3-х кратное повышение выживаемости гемопоэтических стволовых кроветворных клеток при применении рЧАФП после острого гамма-облучения. Так однократное введение рЧАФП через 5 – 15 мин. после облучения мышей C57Bl/6 в дозе 5,5 Гр приводило к увеличению количества эндоколоний в 2,9 раза и массы селезенки в 1,6 раза. Пятикратное применение рЧАФП после облучения белых беспородных мышей стока CD1 в дозе 4 Гр приводило к увеличению количества эндоколоний в 2,7 раза и массы селезенки в 2,3 раза, а облучение этих мышей в дозе 4,5 Гр вызывало увеличение колониеобразования в 3,3 раза и статистически значимо не влияло на массу селезенки.

Оценку влияния рЧАФП на стволовые клетки эпидермиса проводили в модели радиационного ожога кожи [5]. Для этого в двух сериях экспериментов на мышах (сток CD1) и одной серии экспериментов на кроликах (шиншилла) после локального облучения кожи в дозе 60 Гр на зону радиационного ожога 10-кратно (сразу облучения и далее ежедневно до 5 сут., на 7, 9, 11 и 13 сут.) наносили 200 мкл липосомального рЧАФП, содержащего 10 мг/мл рЧАФП.

В этих экспериментах было выявлено, что рЧАФП в 1-й серии экспериментов на мышах CD1 приводил к увеличению количества стволовых клеток эпидермиса в зоне радиационного ожога в 4, 8 и 13 раз, соответственно на 7-е, 21-е и 35-е сут. после облучения. Во второй серии экспериментов на мышах CD1 количество стволовых клеток эпидермиса было в 2, 1,7 и 4,8 раза больше в те же сроки обследования по сравнению с результатами в группе животных, которым вместо рЧАФП на ожоговую рану наносили воду для инъекций.

В экспериментах на кроликах было выявлено, что рЧАФП приводит к увеличению количества стволовых клеток эпидермиса в 3,5, 2,1 и 1,6 раза на 7-е, 21-е и 35-е сут. после облучения по сравнению с эффектом при нанесении воды для инъекций на ожоговую рану.

Таким образом, во всех экспериментах было показано, что липосомальный рЧАФП приводит к повышению выживаемости гемопоэтических стволовых клеток при применении до или после радиационного воздействия, а также к повышению выживаемости стволовых клеток эпидермиса в зоне лучевой ожоговой раны.

1. Липосома, фармацевтическая композиция и лекарственное средство для лечения местных радиационных поражений кожи, применение липосом и способ для лечения местных радиационных поражений кожи: пат. 2642957 С2 Рос. Федерация: МПК7 А61К 31/00 (2006.01) / авторы: Аклев А.В., Обвинцева Н.А., Семенкова Л.Н., Беневоленский С.В., Тряпицына Г.А., Пряхин Е.А., Остроумов Ю.И., Атаманюк Н.И., Дудич И.В.; патентообладатель ФГБУН УНПЦ РМ ФМБА России. № 2016108822; заявл. 11.03.2016; опубл. 29.01.2018, Бюл. №4. 43 с.

2. Способ экстренной профилактики и лечения острой лучевой болезни: пат. Ru 2699040 С1 Рос. Федерация: МПК А61К 38/18(2006.01); А61Р 39/00(2006.01) / авторы: Аклев А.В., Пряхин Е.А., Тряпицына Г.А., Остроумов Ю.И., Семенкова Л.Н., Дудич И.В.,

Гребенников Е.П., Шмелин П.С.; патентообладатель ФГБУН УНПЦ РМ ФМБА России. № 2018127107; заявл. 23.07.2018; опубл. 03. 09.2019, Бюл. №25. 43 с.

3. Липосомальное лекарственное средство для лечения местных радиационных поражений кожи // Патент на изобретение RU 2712079 С1, / Авторы Аклев А.А., Пряхин Е.А., Тряпицына Г.А., Атаманюк Н.И., Шапошникова И.А., Остроумов Ю.И., Семенкова Л.Н., Дудич И.В., Гребенников Е.П., Шмелин П.С. патентообладатель ФГБУН УНПЦ РМ ФМБА России. № 2019128085 заявл. 05.09.2019. опубл. 27.01.2020. Бюл. №3.

4. Pryanin E. A., G. A. Trjapitsyna, I. A. Shaposhnikova, M. V. Tyuhay, Yu. I. Ostroumov, P. S. Shmelin, A. V. Akleev Influence of Liposomal Compositions Containing AFP and GCSF Recombinant Human Proteins on Mice Skin Radiation Burn According to Clinical Indicators and Indices of Skin Stem Cells // *Biology Bulletin*, 2019, Vol. 46, No. 11, pp. 1485–1492.

5. Тряпицына Г.А., Пряхин Е.А., Атаманюк Н.И., Обвинцева Н.А., Егорейченков Е.А., Новиков Е.В., Кокнаев Г.Н., Важенин А.В., Аклев А.В. Методика определения периодов патогенеза лучевого ожога кожи у мышей по клиническим показателям с использованием фотонаблюдения // *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2017. Т. 57. № 5. С. 495-504.

ПОВЫШЕНИЕ ВЫЖИВАЕМОСТИ ОБЛУЧЕННЫХ НЕЙРАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК МЫШИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ЭКСОСОМ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

M.G. Ratushnyak, D.A. Shaposhnikova, G.A. Posypanova, E.Yu. Moskaleva

НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

e-mail: Ratushnyak_MG@nrcki.ru

Резюме. Для профилактики и лечения отдаленных пострадиационных повреждений мозга разрабатываются препараты экзосом (Экз) нейральных (НСК) и мезенхимных стволовых клеток (МСК) человека. Пролиферация МСК в культуре ограничена. При сравнении активности Экз, секретируемых МСК и фибробластами человека, в экспериментах *in vitro* показана их равная способность повышать выживаемость облученных НСК мыши, что свидетельствует о перспективности изучения эффективности Экз фибробластов в экспериментах на животных.

Ключевые слова: нейральные стволовые клетки, мезенхимные стволовые клетки, фибробласты, экзосомы, гамма-излучение, головной мозг

INCREASING THE SURVIVAL OF IRRADIATED MOUSE NEURAL STEM CELLS USING EXOSOMES OF HUMAN MESENCHYMAL STEM CELLS

M.G. Ratushnyak, D.A. Shaposhnikova, G.A. Posypanova, E.Yu. Moskaleva

NRC “Kurchatov Institute”, Moscow, Russia

e-mail: Ratushnyak_MG@nrcki.ru

Summary. For the prevention and treatment of long-term post-radiation brain damage, preparations of human neural stem cells (NSCs) and mesenchymal stem cells (MSCs) exosomes are being developed. MSC proliferation in culture is limited. When comparing the activity of Ex secreted by MSCs and human fibroblasts in *in vitro* experiments, their equal ability to increase the survival of irradiated mouse NSCs was shown. This indicates the promise of studying the radiomodifying effect of Ex of fibroblasts in animal experiments.

Key words: neural stem cells, mesenchymal stem cells, fibroblasts, exosomes, gamma radiation, brain

При лучевой терапии опухолей мозга, опухолей в области головы и шеи и метастазов в мозг важной клинической проблемой является развитие у пациентов нарушений когнитивных функций в отдаленный период после облучения мозга. В основе развития таких осложнений лежит гибель нейральных стволовых клеток (НСК) и нарушение нейрогенеза в гиппокампе, гибель части нейронов и глиальных клеток и активация клеток микроглии, секретирующих провоспалительные цитокины, которые затем активируют астроциты. Каскад этих событий приводит к развитию хронического нейровоспаления и нарушению функций ЦНС [1, 2]. Для профилактики появления и лечения таких нарушений необходима разработка специальных мер. В экспериментах на животных показана перспективность использования экзосом, секретируемых НСК человека линии Н9, интраназальное или внутривенное введение которых мышам после облучения мозга было не менее эффективно, чем трансплантация этих клеток в мозг животных [3]. В сингенной системе показана эффективность интраназального введения экзосом, секретируемых НСК мыши, при облучении головы мышей в дозе 8 Гр для предотвращения развития пострадиационных когнитивных нарушений [4]. Экзосомы МСК при введении мышам в разных моделях также снижали степень повреждения головного мозга [5, 6], а в экспериментах *in vitro* экзосомы НСК и МСК мыши в равной степени стимулировали повышение выживаемости облученных НСК [4]. Для использования в клинических целях доступных культур НСК человека нет, а недостатком МСК является ограниченное время пролиферации в культуре. Можно полагать, что экзосомы, секретируемые фибробластами – мало дифференцированными мезенхимными

клетками другого типа, – также будут обладать способностью повышать выживаемость облученных НСК.

Цель работы: сравнение влияния экзосом, секретируемых мезенхимными клетками человека двух типов – МСК из жировой ткани и фибробластами крайней плоти (ФКП) – на выживаемость облученных НСК мыши.

Методы. Экзосомы выделяли из культуральной среды, кондиционированной МСК из жировой ткани (культура приобретена в коллекции клеточных культур ООО «Покровский Банк стволовых клеток») и ФКП (культура клеток предоставлена к.м.н. Соловьёвой Е.В.) с помощью дифференциального ультрацентрифугирования, как описано ранее [2]. Концентрацию белка в образцах определяли спектрофотометрически с использованием бицинониновой кислоты; средний размер экзосом – с помощью метода динамического светорассеяния на анализаторе размера частиц и дзета-потенциала Malvern Zetasizer Nano ZSP; маркеры экзосом – с помощью проточной цитометрии [2]. НСК облучали в суспензии клеток в культуральной среде в пробирках на установке «УТ-200М» (кобальт-60), при мощности дозы 0,75 Гр/мин в дозе 1 Гр. Сразу после облучения клетки подсчитывали, рассеивали по 20×10^3 клеток/лунку и культивировали в прикрепленном виде в 24-луночных планшетах, предварительно покрытых раствором Geltrex™. Суспензию экзосом МСК и ФКП в культуральной среде вносили к культурам контрольных и облученных НСК через 30 мин после облучения. Выживаемость облученных НСК оценивали через 72 часа после воздействия. Статистическую обработку результатов проводили по методу Стьюдента с использованием компьютерной программы «OriginPro». Результаты представлены в виде средних значений \pm стандартная ошибка среднего. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Размер везикул, выделенных из кондиционированной среды (КС) МСК и ФКП человека, составил $132,6 \pm 78,9$ и $110,7 \pm 10,2$ нм соответственно. В полученных препаратах частиц из КС и МСК, и ФКП обнаружено присутствие маркеров экзосом CD9, CD63 и TSG101. Анализ размера частиц и экспрессии указанных экзосомальных маркеров свидетельствует о том, что выделенные внеклеточные везикулы являются экзосомами. Полученные препараты экзосом использовали для исследования их влияния на выживаемость облученных НСК мыши. Экзосомы суспендировали в культуральной среде для НСК и вносили в конечной концентрации 1 мкг/мл по белку к контрольным и облученным НСК. После облучения НСК в дозе 1 Гр через 72 часа выживаемость клеток снижалась до $62 \pm 3,7\%$ от необлученного контроля. Выживаемость облученных в дозе 1 Гр НСК после культивирования в присутствии экзосом МСК и ФКП человека повышалась до $78 \pm 2,7\%$ и $83 \pm 4,8\%$ соответственно. Сравнение эффективности действия экзосом изученных мезенхимных клеток человека на выживаемость НСК после облучения клеток в дозе 1 Гр позволяет заключить, что защитный эффект экзосом, секретируемых МСК и ФКП, при использовании в выбранной концентрации, был практически одинаков и лишь незначительно ниже, чем при использовании сингенной для НСК системы – экзосом МСК из жировой ткани мыши.

Таким образом, полученные и охарактеризованные по размеру и экспрессии необходимых маркеров препараты экзосом, секретируемых МСК из жировой ткани человека и ФКП, в экспериментах *in vitro* обладали равной способностью повышать выживаемость облученных НСК мыши, что свидетельствует о необходимости исследования эффективности использования экзосом фибробластов человека для предупреждения развития отдаленных повреждений клеток мозга и когнитивных нарушений в экспериментах на животных.

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

1. Greene-Schloesser D, Robbins ME, Peiffer AM, et al Radiation-induced brain injury: A review. // *Front Oncol.* – 2012. – V. 2. – P. 73.
2. Lumniczky K., Szatmari T., Safrany G. Ionizing Radiation Induced Immune and Inflammatory Reactions in the Brain // *Front. Immunol.* 2017. – No. 8. – P. 517.
3. Smith S.M., Giedzinski E., Angulo M.C. et al. Functional equivalence of stem cell and stem cell-derived extracellular vesicle transplantation to repair the irradiated brain // *Stem Cells Transl Med.* – 2020. – V. 9. – N. 1. – P. 93-105.
4. Ратушняк М.Г., Жирник А.С., Смирнова О.Д. и др. Использование препаратов экзосом нейральных стволовых клеток для предупреждения развития отдалённых пострadiационных когнитивных нарушений у мышей // *Клеточные технологии в биологии и медицине.* – 2022. – № 4. – С. 261–268.
5. Liu M., Yang Y., Zhao B., et al. Exosomes Derived From Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells Ameliorate Radiation-Induced Brain Injury by Activating the SIRT1 Pathway. // *Front Cell Dev Biol.* – 2021. – V. 9. – P. 693782.
6. Ратушняк М.Г., Семочкина Ю.П., Ястремский Е.В., Камышинский Р.А. Повышение выживаемости облучённых нейральных стволовых клеток с помощью экзосом стволовых клеток // *Клеточные технологии в биологии и медицине.* – 2022. – № 2. – С. 100–108.

ПРИМЕНЕНИЕ РАДОНОТЕРАПИИ ПРИ ТРАВМЕ СПИННОГО МОЗГА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

В.Ф. Репс^{1,2}

¹Пятигорский государственный научно-исследовательский институт курортологии – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр медицинской реабилитации и курортологии Федерального медико-биологического агентства», Пятигорск, Россия

²Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пятигорск, Россия
e-mail: v.reps@mail.ru

Резюме. В эксперименте на крысах с моделью пневмоконтузионной травмы спинного мозга изучена динамика восстановления сенсомоторной активности и двигательных функций задних конечностей после курса ванн радоносодержащих вод в различных режимах - 1,5 кБк/л (40 нКи/л) и 6,7 кБк/л (180 нКи/л). Показано, что курсовой прием ванн с более высокой концентрацией радона эффективнее влияет на восстановление сенсомоторной функции задних конечностей у крыс с пневмотравмой поясничного отдела спинного мозга. Выявленные изменения наиболее выражены на 28 день после травмирующего воздействия в сравнении с группой животных, получавшей стандартную лекарственную терапию.

Ключевые слова: низкие дозы радона, продукты распада радона, радонотерапия, пневмоконтузионная травма спинного мозга.

THE USE OF RADON THERAPY IN SPINAL CORD INJURY (EXPERIMENTAL STUDY)

V.F. Reps^{1,2}

¹Pyatigorsk State Research Institute of Resort study, a branch of Federal State Budgetary Institution «Federal Scientific and Clinical Center for Medical Rehabilitation and Resort study of Federal Medical and Biological Agency», Pyatigorsk, Russia

²Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – a branch of Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, Russia
e-mail: v.reps@mail.ru

Summary. In an experiment on rats with a model of pneumocontusion spinal cord injury, the dynamics of restoration of sensorimotor activity and motor functions of the hind limbs after a course of baths of radon-containing waters in various modes - 1.5 kBk/l (40 nCi/l) and 6.7 kBk/l (180 nCi/l) were studied. It has been shown that the course administration of baths with a higher concentration of radon has a more effective effect on the restoration of sensorimotor function of the hind limbs in rats with lumbar spinal cord pneumotrauma. The revealed changes were most pronounced on the 28th day after the traumatic effect in comparison with the group of animals receiving standard drug therapy.

Key words: low doses of radon, radon decay products, radon therapy, pneumocontusion injury of the spinal cord.

Актуальность. Радон - это природный газообразный радиоактивный элемент, который не имеет вкуса, запаха и цвета. Радон-222 является одним из самых тяжелых элементов в нулевой группе инертных газов. Процесс распада радона и его изотопов сопровождается испусканием α - или β -частиц. Основными продуктами распада радона являются короткоживущие изотопы Po, Pb, Bi. В земной коре радон мигрирует либо в газообразном, либо в растворенном состоянии. Богатые радоном воды встречаются на Алтае, в Карелии и Забайкалье. Содержание радона в этих водах может достигать более

8000 Бк/л. В России насчитывается около 30 типов минеральных вод с высоким содержанием радона. Другой тип связан с геодинамической активностью регионов и вторичной радиоактивностью. Хорошо известным примером богатых радоном вод второго типа является Пятигорск на Северном Кавказе. При смешивании подземных замкнутых вод с диоксидом углерода, сероводородом и радоном образуются радоновые воды. Концентрация радона составляет 1170-2430 Бк/л. В радоновых минеральных лечебных водах, согласно российской классификации минеральных вод, концентрация радона должна быть больше, чем 185 Бк/л [1].

Радоновые ванны с природными и искусственными радоновыми водами – одна из самых распространенных процедур, которые в настоящее время применяются для лечения воспалительных и дегенеративных заболеваний различного генеза в санаториях и спа-центрах на многих курортах России и мира [2].

Целью работы явилось исследование нейрофизиологических функций крыс с травмой спинного мозга при применении радоновых ванн различной концентрации на основании анализа динамики восстановления двигательной и сенсомоторной активности задних конечностей.

Материалы и методы исследования. 24 крысы-самца линии Вистар рандомизированы на 4 группы: 1-я группа (контроль 1) - 6 животных с моделью пневмоконтузии спинного мозга в поясничном отделе (L4/5); 2-я группа (контроль 2-группа сравнения) – 6 крыс со стандартной лекарственной терапией («Брейнмакс» 8мг/2 мл 16 инъекций на 10 день и «Лорноксикам» 100мг/мл на 1 и 3 день после моделирования травмы); 3-я группа (опытная 1) - 6 крыс с моделью пневмоконтузии, на 5 день после травмы применение курса (10 ванн) радоновых вод Пятигорского месторождения с концентрацией радона 1,5 кБк/л (40 нКи/л), через день, температура воды в ванне 37⁰ С, экспозиция 15 минут, с частотой 3-4 в неделю; 4-я группа (опытная 2) --6 крыс с моделью пневмоконтузии и на 5 день после травмы также проводился курс 10 бальнеопроцедур с концентрацией радона 6,7 кБк/л (180 нКи/л) при тех же условиях. Моделирование травмы спинного мозга у крыс осуществлялось под хлоралгидратным наркозом (350 мг/кг), внутривенно. Хирургическую стадию наркоза определяли по отсутствию у животного роговичного рефлекса. На предварительно выбритую поверхность спины крыс-самцов воздействовали точно направленным потоком воздуха, под высоким давлением, в плотную, к поясничному отделу крысы (L4/5). Перед воспроизведением воздушного выстрела позвонки должны быть стабилизированы зажимами [3].

Результаты исследования. Оценка эффективности радонотерапии в эксперименте проводилась с помощью паттерна двигательных и сенсомоторных тестов для анализа динамики восстановления физиологических функций задних конечностей у крыс с моделью пневмоконтузионной травмы спинного мозга. При оценке подвижности отдельных суставов задних конечностей и способности животного ставить их параллельно телу для поддержания веса тела над поверхностью пола отмечалась небольшая разница в 1,5 балла (шкала теста Бассо, Битти, Бреснахана) между животными, получавшими курсы с дозой радона 1,5 кБк/л и 6,7 кБк/л после 5-й процедуры (28-й день после травмы). Незначительные различия в эффективности применения курсов с различной концентрацией радона регистрировали и по результатам балансового теста. На 14 день после травмы (после 5-ой процедуры радоновых ванн с дозой радона 1,5 кБк/л) регистрировалось наименьшее количество ошибок шага задних конечностей -22% от общего количества шагов при выполнении животными теста «Горизонтальная лестница», тогда как на 28 день после травмы (после 10 процедуры) лучшие результаты сенсомоторного теста - 19% ошибок шага при выполнении данного теста показали животные из группы с курсом радона 6,7 кБк/л. Животные группы сравнения, получающей стандартную лекарственную терапию, совершали до 50% ошибок шага от общего количества шагов задними конечностями и через 14, и через 28 дней после травмы.

Механизмы влияния радонотерапии на клетки тканей организма животного связано с степенью проникновения радона и продуктов его распада. Ранее другими авторами проведены исследования влияния поступления радона или его продуктов через дыхательные пути или кожу на дозу радиации для оценки возможных сценариев воздействия радоновых процедур на организм. На основании этих исследований построена биокинетическая модель поступления радона и его дочерних продуктов распада в организм человека при принятии суховоздушных и водных радоновых процедур [4].

На основании анализа литературных источников последних лет можно предположить, что одним из основных биологических эффектов после применения радоновых процедур является модификация клеточных ответов иммунной системы. Показано ослабление воспалительного процесса и небольшое, но продолжительное увеличение Т-клеток и моноцитов, а также изменения в подмножестве иммунных клеток, в частности, цитотоксических Т- и NK-клеток. При этом, наиболее заметные эффекты проявлялись в значительном снижении уровня маркера активации CD69 на Т-, В- и NK-клетках [5]. Во время иммунного ответа Th- эффекторные клетки и Treg—регуляторные клетки обычно играют противоположные роли: первые способствуют, вторые подавляют иммунное воспаление [6].

Таким образом, полученные результаты по динамике восстановления двигательных функций у крыс с пневмотравмой спинного мозга после 10 процедур, вероятнее всего, связаны с обезболивающим и иммуносупрессорным эффектом радонотерапии. Механизмы данного эффекта связаны с эпигенетической модуляцией функций Т-хелперов.

1. Voronov A.N. Radon-rich waters in Russia. *Environ Geol* 2004.-Vol.46.-P.630–634.
2. Kojima S, Cuttler JM, Shimura N, Koga H, Murata A, Kawashima A. Radon Therapy for Autoimmune Diseases Pemphigus and Diabetes: 2 Case Reports. *Dose Response*.2019.- Vol.17, N.2.-P.:1559325819850984.
3. Marcol W., Slusarczyk W., Gzik M., Larysz-Brysz M., Bobrowski M., Gryniewicz-Bylina B., Rosicka P., Kalita K., Węglarz W., Barski J.J..(Marcol W, et al.) Air gun impactor a novel model of graded white matter spinal cord injury in rodents. *J. Reconstr. Microsurg*. 2012.-Vol.28.-P.561–568.
4. Hofmann, W.; Winkler-Heil, R.; Lettner, H.; Hubmer, A.; Gaisberger, M. Radon transfer from thermal water to human organs in radon therapy: Exhalation measurements and model simulations. *Radiat. Environ. Biophys*. 2019.-Vol. 58.-P. 513–529.
5. Rühle P.F., Wunderlich R., Deloch L., Fournier C., Maier A., Klein G., et al. Modulation of the peripheral immune system after low-dose radon spa therapy: Detailed longitudinal immune monitoring of patients within the RAD-ON01 study. *Autoimmunity*.2017.-Vol. 50, N.2.-P. 133–140.
6. Eckert D., Evic M., Schang J., Isbruch M., Er M., Dörrschuck L., Rapp F., Donaubaue A.J., Gaip U.S., Frey B., Fournier C.. Osteo-immunological impact of radon spa treatment: due to radon or spa alone? Results from the prospective, thermal bath placebo-controlled RAD-ON02 trial. *Front Immunol*. 2024.-Vol.14.-P.1284609.

ВЫБОР СХЕМЫ ВВЕДЕНИЯ ИНГИБИТОРА РЕЦЕПТОРА КСФ-1 ДЛЯ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННОГО НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ

*А.В. Родина, А.С. Жирник, О.Д. Смирнова, О.В. Высоцкая, Д.А. Шапошникова,
Е.Ю. Москалева*

НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия
e-mail: Rodina_AV@nrcki.ru

Резюме. Ингибитор рецептора КСФ-1 PLX3397 вводили мышам в течение 7 сут перед облучением головы в дозе 8 Гр (схема I) и дополнительно через 14 сут ещё в течение 28 сут (схема II). Через 2 мес обнаружено восстановление состояния микроглии у облученных мышей только при схеме I. При обеих схемах показано восстановление эпизодической памяти, а при схеме I – и долговременной пространственной памяти. Временное ингибирование рецептора КСФ-1 перед облучением позволяет предупредить развитие нейровоспаления и когнитивных нарушений.

Ключевые слова: головной мозг, γ -облучение, нейровоспаление, микроглия, рецептор колониестимулирующего фактора 1, когнитивные функции

OPTIMIZATION OF THE TREATMENT PROTOCOL FOR CSF-1 RECEPTOR INHIBITOR TO PREVENT RADIATION-INDUCED NEUROINFLAMMATION

*A.V. Rodina, A.S. Zhirnik, O.D. Smirnova, O.V. Vysotskaya, D.A. Shaposhnikova,
E.Yu. Moskaleva*

NRC «Kurchatov Institute», Moscow, Russia
e-mail: Rodina_AV@nrcki.ru

Summary. In this study two treatment protocols for PLX3397, inhibitor of the CSF-1 receptor, were used: protocol I, involving 7-day administration of drug to mice previous to γ -irradiation of the head at a dose of 8 Gy, and protocol II, involving treatment as in protocol I with additional administration of drug for 28 days starting 2 weeks after irradiation. Irradiated mice demonstrated the recovery of the microglia 2 months after irradiation only when protocol I was used. Recovery of episodic memory was seen when both administration schemes were used, while recovery of long-term spatial memory - only when protocol I was used. Temporary inhibition of the CSF-1 receptor before irradiation allows prevention of neuroinflammation and cognitive impairment.

Key words: brain, γ -irradiation, neuroinflammation, microglia, colony-stimulating factor 1 receptor, cognitive function

Облучение головы и шеи при радиотерапии опухолей приводит к активации микроглии (МГ), развитию нейровоспаления и появлению когнитивных дисфункций в отдаленный период после воздействия [1]. В настоящее время нет эффективных методов предотвращения развития этих нарушений. Для выживания, пролиферации и функционирования клеток МГ необходима активация рецептора КСФ-1 под действием КСФ-1 или ИЛ-34 [2]. МГ является основным типом клеток, экспрессирующих рецептор КСФ-1 в головном мозге, а его специфическое ингибирование приводит к быстрой и практически полной элиминации этих клеток [3]. Использование ингибитора рецептора КСФ-1 PLX3397 приводит к подавлению вызванного ЛПС нейровоспаления [3], что может способствовать сохранению когнитивных функций в отдаленный период после облучения.

Целью работы явилось изучение действия PLX3397 при разных схемах введения на показатели пострадиационного нейровоспаления и когнитивные функции мышей в

отдаленный период после γ -облучения головы для создания новых подходов к их предупреждению.

Мышей C57Bl/6 облучали после предварительного внутрижелудочного введения PLX3397 (1 мг/мышь) в течение 7 сут (схема I), а также при его внутрижелудочном введении в течение 7 сут и последующем пероральном введении (0,75 мг/мышь) в течение 28 сут после 2 недель перерыва (схема II). Однократное γ -облучение головы мышей в дозе 8 Гр (^{60}Co) при мощности дозы 2,35 Гр/мин проводили на установке «ГУТ-200М». Клетки покоящейся (П) МГ идентифицировали как популяцию CD11b⁺/CD45^{low}, а активированной (А) МГ – как CD11b⁺/CD45^{high} с помощью проточной цитофлуориметрии. Уровень экспрессии генов цитокинов определяли с помощью ОТ-ПЦР. Когнитивные функции исследовали с помощью тестов «Распознавание нового объекта» (РНО) и «Водный лабиринт Морриса» (ВЛМ).

Исследование содержания МГ во фракции клеток, выделенных из головного мозга через 7 сут после введения PLX3397, показало, что под действием препарата снизилось содержание ПМГ на 90% и АМГ на 72% по сравнению с контролем, а через 2 мес происходила полная репопуляция ПМГ и АМГ независимо от схемы введения препарата, но доля АМГ при схеме II была повышена ($p < 0,001$). У облученных животных через 2 мес наблюдалось значимое снижение содержания ПМГ и увеличение доли АМГ. У облученных животных, которым перед облучением вводили PLX3397 по схеме I, содержание ПМГ (CD11b⁺/CD45^{low}) и АМГ (CD11b⁺/CD45^{high}), и доля АМГ не отличались от контроля. У животных, которым вводили PLX3397 по схеме II, через 2 мес после облучения содержание CD11b⁺/CD45^{low} популяции оставалось сниженным, а содержание CD11b⁺/CD45^{high} популяции и доля АМГ были повышены по сравнению с интактным контролем, но не отличались от этих показателей у необлученных животных, получавших PLX3397 по схеме II. Уровень экспрессии мРНК провоспалительного цитокина TNF α в гиппокампе, повышенный после облучения, снижался при введении препарата до уровня контроля. В тесте РНО показано, что введение мышам PLX3397 по обеим схемам приводило к сохранению способности к распознаванию нового объекта, которая была утрачена у облученных животных. Использование PLX3397 по схеме I позволило защитить мышей от пострадиационного нарушения долговременной пространственной памяти, оцениваемой в тесте ВЛМ в отдаленный период после облучения головы, а введение PLX3397 по схеме II не предотвращало развитие её дефицита.

Таким образом, введение PLX3397 по схеме I более эффективно предотвращало развитие нейровоспаления. Обе схемы введения обеспечивали сохранение эпизодической памяти у облученных животных в отдаленный период после облучения. Введение препарата по схеме II оказалось менее эффективным, т.к. приводило к повышению доли АМГ как у облученных, так и необлученных мышей, и не позволило защитить от нарушения долговременной памяти, вызванного радиационно-индуцированным нейровоспалением. Это может быть обусловлено тем, что помимо важной роли МГ в удалении погибших клеток и ремоделировании синапсов, МГ участвует в поддержании нейрогенеза и обеспечивает выживаемость вновь образованных нейробластов в гиппокампе, а ее длительное ингибирование приводит к нарушению этих процессов [4]. Полученные результаты позволяют заключить, что временное ингибирование рецептора КСФ-1 при введении PLX3397 перед облучением позволяет предотвратить радиационно-индуцированную активацию МГ и развитие неблагоприятных нейрокогнитивных последствий в отдаленный период после воздействия, а дополнительное введение этого ингибитора в отдаленный период не способствует повышению его эффективности.

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

1. Parihar VK, Acharya MM, Roa DE, et al. Defining functional changes in the brain caused by targeted stereotaxic radiosurgery. *Transl. Cancer Res.* 2014; 3(2):124-137.
2. Chitu V, Gokhan Ş, Nandi S, et al. Emerging roles for CSF-1 receptor and its ligands in the nervous system. *Trends Neurosci* 2016; 39:378-93.
3. Elmore MR, Najafi AR, Koike MA, et al. Colony-stimulating factor 1 receptor signaling is necessary for microglia viability, unmasking a microglia progenitor cell in the adult brain. *Neuron.* 2014; 82(2):380-97.
4. Kreisel T, Wolf B, Keshet E, Licht T. Unique role for dentate gyrus microglia in neuroblast survival and in VEGF-induced activation. *Glia.* 2019; 67(4): 594-618.

СРАВНЕНИЕ РАДИОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ МЕДНОГО ХЛОРОФИЛЛИНА, ТРОЛОКСА, РИБОКСИНА И ИНДРАЛИНА ПРИ ОСТРОМ ОБЛУЧЕНИИ МЫШЕЙ

Л.А. Ромодин, О.В. Никитенко, Т.М. Бычкова, Ю.А. Зрилова

ФГБУ «Государственный научный центр – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна ФМБА России», Москва, Россия
e-mail: rla2904@mail.ru

Резюме. В настоящей работе проведено сравнение радиозащитных свойств медного хлорофиллина, тролокса, рибоксина и индралина при профилактическом внутрибрюшинном введении мышам, разово облучённых рентгеновским излучением в дозах 6 Гр, 6,5 Гр и 6,75 Гр. Фактор изменения дозы хлорофиллина, тролокса, рибоксина и индралина в дозировках 100 мкг/г по тесту 30-суточной выживаемости составил 1,1, 1, 1,07 и 1,8 соответственно.

Ключевые слова: радиопротектор, хлорофиллин, тролокс, рибоксин, индралин, мыши

COMPARISON OF THE RADIOPROTECTIVE PROPERTIES OF COPPER CHLOROPHYLLIN, TROLOX, RIBOXIN AND INDRALIN DURING ACUTE IRRADIATION OF MICE

L.A. Romodin, O.V. Nikitenko, T.M. Bychkova, Yu.A. Zrilova

State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia
e-mail: rla2904@mail.ru

Summary. This work compares the radioprotective properties of copper chlorophyllin, trolox, riboxin and indralin after prophylactic intraperitoneal administration to mice single-irradiated with x-rays in doses of 6 Gy, 6.5 Gy and 6.75 Gy. The factor of change in the dose of chlorophyllin, trolox, riboxin and indralin at dosages of 100 µg/g according to the 30-day survival test was 1.1, 1, 1.07 and 1.8.

Key words: radioprotector, chlorophyllin, trolox, riboxin, indralin, mice

По причине высокой химической токсичности всех известных по-настоящему эффективных радиопротекторов в настоящее время активно ведётся поиск безопасных радиозащитных препаратов среди малотоксичных так называемых природных веществ [1]. И в качестве примера таковых можно привести гипоксантиновый рибонуклеозид рибоксин, чаще называемый в англоязычной литературе инозином, о радиозащитных свойствах которого, в целом, известно достаточно давно [2], а также – препараты на основе зелёного пигмента растений хлорофилла [3-5]. Большинство данных работ посвящено не самому хлорофиллу, а водорастворимому продукту его омыления – хлорофиллину [4, 5]. Однако, в целом, сведения о данных веществах как радиопротекторах носят несистематизированный и разрозненный характер, не позволяя начать разработку клинически приемлемых форм данных веществ, а во всех этих работах радиозащитные свойства изучаемых веществ не сравнивались с таковыми у признанных радиопротекторов.

Цель настоящей работы – сравнение радиозащитных при профилактическом введении, т.е. радиопротекторных [6], свойств медного хлорофиллина, тролокса, рибоксина и индралина при остром облучении мышей рентгеновским излучением.

Индралин является табельным отечественным радиопротектором [6], а потому сравнение радиопротекторных свойств перспективных радиозащитных препаратов с таковыми у индралина необходимо для соблюдения верной методологии исследования. Изучение радиопротекторных свойств водорастворимой формы витамина Е тролокса

обусловлено тем, что он является эталонным антиоксидантом. А наличием антиоксидантных свойств, на основании ряда работ [2, 4], можно объяснить радиозащитные эффекты рибоксина [2] и хлорофиллина [4]. Кроме того, авторы [7] сообщают о радиозащитных свойствах тролокса.

Эксперимент был проведён на мышах-самцах линии ICR (CD-1) SPF-категории, которым внутривенно вводились растворы в 0,2% уротропине изучаемых веществ: хлорофиллина в дозировках 100 или 150 мкг/г массы тела за 20 минут перед облучением, тролокса или рибоксина в дозировках 100 или 200 мкг/г за 20 минут перед облучением или индралина в дозировках 100 или 150 мкг/г за 10–15 минут перед облучением, ввиду нерастворимости индралина в воде для достижения указанных дозировок препарат вводился в 0,43% или 0,64% винной кислоте соответственно. Облучение было проведено на рентгеновской установке РУСТ-М1 (анодное напряжение 200 кВ, мощность дозы 0,85 Гр/мин, алюминиевый фильтр 1,5 мм) в дозах: 6,0 Гр, 6,5 Гр и 6,75 Гр. 30-суточную выживаемость мышей анализировали по Каплану–Майеру.

Рибоксин показал статистически значимое повышение выживаемости мышей по сравнению с группой облучённого контроля только при введении в дозировке 100 мкг/г массы тела перед облучением в дозе 6,75 Гр. Во всех остальных изученных случаях рибоксин не показал достоверного повышения уровня выживаемости.

Профилактическое введение хлорофиллина при воздействии всех трёх доз рентгеновского излучения вызвало статистически значимое, по сравнению с группой облучённого контроля, повышение выживаемости мышей. При этом значимых различий между действием хлорофиллина в дозировках 100 и 150 мкг/г не обнаружено. Однако при облучении мышей в дозах 6,5 Гр и 6,75 Гр защитный эффект хлорофиллина оказался статистически значимо ниже такового для индралина.

Тролокс ни в одной дозировке при облучении всеми дозами радиации не показал статистически значимого повышения выживаемости мышей по сравнению с группой облучённого контроля.

Для изучаемых веществ, вводимых мышам внутривенно перед облучением в дозировках 100 мкг/г массы тела, мы вычислили значения фактора изменения дозы (ФИД) – отношения дозы излучения, вызывающей гибель половины получивших препарат животных, к дозе излучения, вызывающей гибель половины животных, не получивших его. Значение ФИД для хлорофиллина составляет 1,1, рибоксина – 1,07, тролокса – 1, индралина – 1,8. То есть, тролокс не обладает радиозащитными свойствами при профилактическом введении, а данные свойства у хлорофиллина нельзя считать сильными, хотя они и выше таковых у рибоксина. Однако данные вещества могут оказаться эффективными при использовании после облучения или в составе схемы комбинированного применения нескольких радиозащитных средств. Поэтому продолжение представленных исследований мы считаем перспективными.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского научного фонда № 23-24-00383, <https://rscf.ru/project/23-24-00383/>.

1. Raj S., Manchanda R., Bhandari M., Alam M.S. Review on Natural Bioactive Products as Radioprotective Therapeutics: Present and Past Perspective // Current pharmaceutical biotechnology. – 2022. – Vol. 23, № 14. – P. 1721–1738. doi: 10.2174/1389201023666220110104645
2. Гудков С.В., Гудкова О.Ю., Штаркман И.Н., Гапеев А.Б., Чемерис Н.К., Брусков В.И. Гуанозин и инозин как природные генопротекторы для клеток крови мышей при воздействии рентгеновского излучения // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2006. – Т. 46, № 6. – С. 713–718.
3. Поздеев А.В., Лысенко Н.П. Повышение радиационной устойчивости организма млекопитающих при применении препаратов хлорофилла в условиях радиоактивного

загрязнения окружающей среды // Известия Международной академии аграрного образования. – 2018. – Выпуск 42, № Т. 2. – С. 60–62.

4. Kumar S.S., Shankar B., Sainis K.B. Effect of chlorophyllin against oxidative stress in splenic lymphocytes *in vitro* and *in vivo* // Biochimica et biophysica acta. – 2004. – Vol. 1672, № 2. – P. 100–111. doi: 10.1016/j.bbagen.2004.03.002

5. Geric M., Gajski G., Mihaljevic B., Miljanic S., Domijan A.M., Garaj-Vrhovac V. Radioprotective properties of food colorant sodium copper chlorophyllin on human peripheral blood cells *in vitro* // Mutation research. Genetic toxicology and environmental mutagenesis. – 2019. – Vol. 845 – P. 403027. doi: 10.1016/j.mrgentox.2019.02.008

6. Васин М.В. Классификация противолучевых средств как отражение современного состояния и перспективы развития радиационной фармакологии // Радиационная биология. Радиоэкология. 2013. – Т. 53, № 5. – С. 459–467. doi: 10.7868/S0869803113050160

7. McClain D.E., Kalinich J.F., Ramakrishnan N. Trolox inhibits apoptosis in irradiated MOLT-4 lymphocytes // FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology. – 1995. – Vol. 9, № 13. – P. 1345–1354. doi: 10.1096/fasebj.9.13.7557025

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОИЗВОДНОГО ИЗОТИОМОЧЕВИНЫ В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВА ПРОФИЛАКТИКИ ЛУЧЕВЫХ СИАЛОАДЕНИТА И ОРАЛЬНОГО МУКОЗИТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VIVO*

В.А. Рыбачук, А.О. Косаченко, К.А. Николаев, Л.И. Шевченко, А.А. Шитова, О.В. Солдатова, О.С. Измestьева, И.К. Волкова, А.С. Филимонов, М.В. Филимонова
Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия
e-mail: rybachukvitaliy@gmail.com

Резюме. В экспериментах *in vivo* показана способность производного изотиомочевины под условным шифром ИТМ защищать нормальные ткани слюнных желез и слизистой оболочки полости рта при развитии лучевых сиалоаденита и орального мукозита, вызванных как однократным, так и фракционированным лучевым воздействием.

Ключевые слова: радиопротекторы, производные ИТМ, лучевая терапия, осложнения лучевой терапии, лучевой оральный мукозит, лучевой сиалоаденит.

STUDY OF ISOTHIIOUREA DERIVATIVE AS A PROPHYLACTIC AGENT FOR RADIATION SIALOADENTITIS AND ORAL MUCOSITIS IN AN *IN VIVO* EXPERIMENT

V.A. Rybachuk, A.O. Kosachenko, K.A. Nikolaev, L.I. Shevchenko, A.A. Shitova, O.V. Soldatova, O.S. Izmest'eva, I.K. Volkova, A.S. Filimonov, M.V. Filimonova
The A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – the branch of the FSBI “National Medical Research Radiological Centre” of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia
e-mail: rybachukvitaliy@gmail.com

Summary. The ability of isothioureia derivative under the code ITM to protect normal tissues of salivary glands and oral mucosa during the development of radiation sialoadentitis and oral mucositis caused by single and fractionated radiation exposure has been demonstrated in *in vivo* experiments.

Key words: radioprotectors, ITM derivatives, radiation therapy, complications of radiation therapy, radiation oral mucositis, radiation sialoadentitis.

При радиотерапии опухолей головы и шеи развитие острого лучевого орального мукозита различной степени тяжести происходит в 100% случаев. В зависимости от дозы и режима лучевой терапии более 80% пациентов, получающих лучевую терапию в области головы и шеи, страдают от лучевого поражения слюнных желез. Современный арсенал фармакологических средств профилактики осложнений радиотерапии не позволяет решить данную проблему, в связи с чем необходимо разрабатывать новые подходы к профилактике лучевых патологий.

В лаборатории радиационной фармакологии МРНЦ им. А.Ф. Цыба синтезированы уникальные соединения – N, S-замещенные производные изотиомочевины – обладающие выраженным селективным противолучевым действием, способные защищать нормальные ткани от воздействия излучений различного качества.

Цель работы: исследовать потенциал N, S-замещенного производного изотиомочевины, соединения ИТМ, в качестве средства профилактики осложнений радиотерапии солидных опухолей головы и шеи в экспериментах *in vivo*.

Изучение соединения ИТМ в качестве средства профилактики лучевого орального мукозита и сиалоаденита проводили гистологическими, биохимическими, морфометрическими методами, а также методом сиалометрии. Соединение ИТМ вводили внутривентрикулярно в дозе 1/12 LD₁₀.

Результаты. Эпителий языка у животных после однократного и фракционированного β -облучения подвергался глубоким деструктивным изменениям. В тоже время, превентивное применение соединения ГТМ в относительно безопасных дозах значительно предотвращает гибель животных при развитии патологии, снижает тяжесть лучевого орального мукозита в острый период, обеспечивая раннее развитие выраженного процесса регенерации эпителия. При этом структура слизистой оболочки полости рта животных, получавших соединение ГТМ, слабо отличается от интактных особей.

Превентивное внутрижелудочное применение соединения ГТМ в качестве средства профилактики лучевого сиалоаденита в первые недели после облучения сохраняет функциональную активность слюнных желез на уровне интактных животных, уменьшает степень воспаления и ключевых патоморфологических изменений. В отдаленные сроки у животных, получавших соединение ГТМ перед локальным воздействием β -излучения, не отмечалось признаков прогрессирования лучевого сиалоаденита, а относительное содержание фиброзной ткани в слюнных железах было статистически значительно меньше в сравнении с незащищёнными животными.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшей разработки соединения ГТМ в качестве потенциального средства профилактики лучевого сиалоаденита и орального мукозита.

ИССЛЕДОВАНИЕ РАДИОМОДИФИЦИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ НООТРОПНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА МЕЛКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

*Ю.С. Севериухин^{1,2}, К.Н. Голикова^{1,2}, Д.М. Утина^{1,2}, И.А. Колесникова^{1,2},
М. Лалковичева⁴, Е.В. Пронских^{1,2}, Н.Н. Буденная^{1,2}, А.А. Иванов³, А.Г. Молоканов¹,
В.Н. Гаевский¹*

¹Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия

²Государственный университет «Дубна», Дубна, Россия

³Лаборатория радиационной иммунологии и экспериментальной терапии радиационных поражений, ФГБУ ГНЦ Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва, Россия

⁴Department of Physical Chemistry Pavol Jozef Safarik University in Košice, Kosice, Slovakia
e-mail: severiukhin@jlnr.ru

Резюме. Изучение ноотропных, нейропротекторных и радиомодифицирующих свойств различных фармакологических агентов является важной задачей космической и медицинской радиобиологии. При выборе препаратов, способных оказывать нейропротекторное действие и обладать радиопротекторными или радиомитигаторными свойствами, важно учитывать наличие побочных эффектов. Для поиска биологических методов обеспечения эффективной радиационной защиты здоровых космонавтов или онкологических больных могут быть использованы препараты на основе природных или синтетических нейропептидов и других компонентов метаболизма ЦНС.

Ключевые слова: нейропептиды, ионизирующее излучение, ноотропы, ЦНС, нейроны, тест «открытое поле»

STUDY OF THE RADIOMODIFYING EFFECT OF NOOTROPIC DRUGS ON SMALL LABORATORY ANIMALS

*Yu.S. Severiukhin^{1,2}, K.N. Golikova^{1,2}, D.M. Utina^{1,2}, I.A. Kolesnikova^{1,2}, M. Lalcovicova⁴,
E.V. Pronskikh^{1,2}, N.N. Budennaya^{1,2}, A.A. Ivanov³, A.G. Molokanov¹, V.N. Gaevsky¹*

¹Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, Russia

²Dubna State University, Dubna, Russia

³Laboratory of radiation immunology and experimental therapy of radiation lesions, A. I. Burnazyan Federal Medical Research Center, Moscow, Russia

⁴Department of Physical Chemistry Pavol Jozef Safarik University in Košice, Kosice, Slovakia
e-mail: severiukhin@jlnr.ru

Summary. The study of nootropic, neuroprotective and radiomodifying properties of various pharmacological agents is an important task in space and medical radiobiology. When choosing drugs that can have a neuroprotective effect and radioprotector or radiomitigator properties, it is important to consider the presence of side effects. To search for biological methods of providing effective radiation protection for healthy cosmonauts or cancer patients, preparations based on natural or synthetic neuropeptides and other components of the CNS metabolism can be used.

Keywords: neuropeptides, ionizing radiation, nootropic, CNS, neurons, open field test

В рамках данной работы было проведено исследование радиомодифицирующего и нейропротекторного действия ноотропных препаратов Semax®, Nootropil®, Cerebrolysin® на половозрелых мышах ICR и крысах SD. Для оценки поведенческих показателей использовали тесты Открытое поле, Т-лабиринт, Водный лабиринт Морриса, Тест для оценки силы захвата передних конечностей. Для оценки морфологических изменений в

головном мозге использовали стандартные методы аутопсии, пробоподготовки, заливки гистологического материала. Для окрашивания нервной ткани использовали методы окрашивания: кризильвиолетом по Нисслю, Fluoro Jade В, гематоксилин-эозином. Гематологическое исследование и оценку ядросодержащих клеток костного мозга проводили в камере Горяева.

Установлено, что препарат “Семакс” при интраназальном введении нормализует показатель эмоционального статуса на 7-е сутки после облучения ускоренными протонами. Препарат восстанавливает уровень показателя силы скелетной мускулатуры облученных животных до контрольных значений. Морфологическая картина в сенсомоторной коре головного мозга облученных животных, которым вводили препарат “Семакс”, близка к нормальной.

Введение препарата Nootropil® сразу после фракционного гамма-облучения в течение 14 суток привело к отсутствию изменений в числе актов замирания, вызванных облучением, и снижало общую двигательную активность. Также наблюдалось сохранение морфометрических показателей и незначительное уменьшение нейродегенерации. Препарат не оказывал лейкопротективного эффекта на лабораторных животных и привел к появлению неубедительных тенденций в чередовании рукавов Т-лабиринта.

Интраперитонеальное введение препарата Cerebrolysin® интактным животным привело к росту двигательной активности. Тенденция к улучшению показателей обучения в тесте Водный лабиринт Морриса после воздействия ускоренных протонов наблюдается в группе с введением исследуемого препарата.

Наличие лабильности в некоторых поведенческих и морфологических показателях при исследовании радиомодифицирующего эффекта ноотропных препаратов различного спектра действия свидетельствует о необходимости проведения дальнейших исследований в данной области.

Список литературы

1. Ляхова К.Н., Иванов А.А., Молоканов А.Г., Северюхин Ю.С., Утина Д.М., Красавин Е.А. Влияние нейропептида Семакс на показатели поведенческой исследовательской реакции и силу скелетной мускулатуры мышей, облученных протонами // Авиакосмическая и экологическая медицина. 2018. Т. 52. № 4. С. 71-76.
2. К. Н. Ляхова, И. А. Колесникова, Н. Н. Буденная, Ю. С. Северюхин, Т. М. Бычкова, О. В. Никитенко, Д. М. Утина, А. Г. Молоканов, А. А. Иванов Влияние препарата “Семакс” на жизненный статус и морфологические изменения в головном мозге мышей при облучении протонами // Радиационная биология. Радиоэкология, 2019, том 59, № 2, с. 191–199
3. 20. Severyukhin, Y.S., Lalkovičová, M., Kolesnikova, I.A. et al. The effect of piracetam on behavioral reactions of adult rats and morphological changes in the brain after whole body fractionated gamma irradiation: an exploratory study. // Radiation Environ Biophys (2021)
4. Патент на изобретение № 2638270 Способ профилактики нарушений психоневрологического статуса при острой лучевой болезни в эксперименте;
5. Патент на изобретение № 2666937 Способ профилактики снижения мышечной силы при острой лучевой болезни в эксперименте

АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ПОПУЛЯЦИЯХ *PÍNUS SYLVÉSTRIS L.* ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ ЗОНЫ ОТЧУЖДЕНИЯ

А.С. Смирнова¹, А.С. Ханова¹, С.А. Гераськин¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Обнинск, Россия
e-mail: sas.smirnova@mail.ru

Резюме. Выполнена оценка активности антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы, каталазы и аскорбатпероксидазы в хвое сосны обыкновенной, подвергающейся хроническому радиационному воздействию в Чернобыльской зоне отчуждения. Выявлено значимое понижение активности супероксиддисмутазы в хвое сосен на исследуемых участках, собранных в зимний период. Не обнаружено устойчивого изменения активности антиоксидантных ферментов каталазы и аскорбатпероксидазы в хвое сосен в ответ на хроническое облучение.

Ключевые слова: хроническое облучение, ферменты, супероксиддисмутазы, каталаза, аскорбатпероксидаза, сосна обыкновенная.

EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT ENZYMES ACTIVITY IN Populations of *PÍNUS SYLVÉSTRIS L.* OF THE CHERNOBYL EXCLUSION ZONE

A.S. Smirnova¹, A.S. Khanova¹, S.A. Geras'kin¹

¹Russian Institute of Radiology and Agroecology of National Research Centre «Kurchatov Institute», Obninsk, Russia
e-mail: sas.smirnova@mail.ru

Summary. The activity of antioxidant enzymes superoxide dismutase, catalase and ascorbate peroxidase in the pine affected to chronic radiation exposure in the Chernobyl exclusion zone was evaluated. A significant decrease in the activity of superoxide dismutase in pine needles in the studied areas collected in winter was revealed. There was no stable change in the activity of antioxidant enzymes catalase and ascorbate peroxidase in pine needles in response to chronic radiation.

Key words: chronic exposure, enzymes, superoxide dismutase, catalase, ascorbate peroxidase, *Pinus Sylvéstris L.*

Произошедшая 38 лет назад авария на Чернобыльской АЭС стала причиной радиоактивного загрязнения части территории Европы. Даже сегодня популяции живых организмов, находящиеся на данной территории, подвергаются хроническому радиационному воздействию. Изучение ответа растений на низкодозовое хроническое облучение имеет большое значение для расширения наших представлений о механизмах адаптации растений к изменениям окружающей среды [1].

В настоящей работе была проведена оценка состояния антиоксидантной системы *Pinus sylvéstris L.*, произрастающей в Чернобыльской зоне отчуждения. Как известно, облучение растений приводит к образованию активных форм кислорода (АФК) и, как следствие, активации систем антиоксидантной защиты растений. Важной частью антиоксидантной системы являются такие ферменты, как супероксиддисмутазы (SOD), каталаза (CAT) и аскорбатпероксидаза (APX). Мы провели анализ активности данных ферментов.

Пробоотбор был проведен в мае и ноябре 2023 года в Гомельской области Республики Беларусь на территории Полесского государственного радиационно-экологического заповедника. Участки Руд 1 и Руд 2 являются контрольными, а Гнезд, Мас, Кул – экспериментальные участки с контрастным уровнем радиоактивного загрязнения и составом дозообразующих радионуклидов. Мощность поглощенной хвоей

дозы на участках составляла для контрольных участков Руд 1 и Руд 2 0,8 мГр/год и 0,7 мГр/год, соответственно. На участке Гн доза составляла 3,3 мГр/год, на участках Мас – 38 мГр/год, Кул – 87 мГр/год [2]. Двухлетнюю хвою отбирали на высоте 12-16 метров от земли с 11 деревьев на каждом участке, после чего немедленно фиксировали в жидком азоте.

Активность SOD определяли в соответствии с методикой [3] с модификациями. Анализ активности CAT проводили по Бисвангеру [4]. Оценку активности аскорбатпероксидазы (APX) выполняли как описано в методике [5]. Показания спектрофотометра переводили в международные единицы ферментативной активности (МЕ). Анализ результатов был выполнен в MS Office Excel и Statistica 10,0.

Супероксиддисмутазы – фермент, катализирующий дисмутацию супероксида, при этом реакция SOD на стрессовые факторы различна [6]. Например, повышение активности данного фермента наблюдалось при воздействии на растения высокой температуры и света повышенной интенсивности, высоких концентраций меди, кадмия, а также заражении плесенью. Снижение активности SOD происходило при окислительном стрессе, вызванном гипотермией, воздействием пероксида водорода, углекислого газа. Уровни активности SOD в хвое сосен, собранной в ноябре 2023 г., с загрязненных участков Гн и Кул значительно понижались в сравнении с контрольным участком Руд 1.

Каталаза и аскорбатпероксидаза участвуют в утилизации пероксида водорода. Исследование активности каталазы в хвое сосен, собранной в мае и ноябре 2023 г., показало статистически значимые отличия между контрольными участками Руд 1 и Руд 2. Результаты исследования не выявили статистически значимых отличий активности аскорбатпероксидазы на экспериментальных участках по сравнению с контролем, исключением является значимое отличие активности в хвое сосен участка Гн по сравнению с контрольным участком Руд 1. Таким образом не обнаружено устойчивого изменения активности антиоксидантных ферментов CAT и APX в хвое сосен чернобыльской зоны отчуждения в ответ на хроническое облучение.

Также была проведена оценка различия уровней активности исследуемых ферментов в различные сезоны года. Статистически значимые отличия активности ферментов были обнаружены в хвое сосен на участках Руд 1 (для SOD и APX), Руд 2 (для CAT и APX) и Мас (для CAT и APX). В хвое сосен, собранных на участках Гн и Кул, не было зафиксировано различий в уровнях активности ферментов в хвое сосны, собранной в мае и ноябре 2023 г. Для объяснения отсутствия различий в активности ферментов в мае, когда активны метаболические процессы, и ноябре, когда активность метаболических процессов сосны снижается, требуются дополнительные исследования.

1. Stanislav Geras'kin, Plant adaptation to ionizing radiation: Mechanisms and patterns, Science of The Total Environment, Volume 916, 2024.

2. Переволоцкая Т.В., Переволоцкий А.Н., Гераськин С.А. Дозы облучения сосновых насаждений в белорусском секторе 30-километровой зоны вокруг Чернобыльской АЭС на современном этапе // Радиационная биология. Радиоэкология. - 2023. - Т. 63. - №3. - С. 300-310.

3. Kajari Das, Luna Samanta, Gagan Chainy, A Modified Spectrophotometric Assay of Superoxide Dismutase Using Nitrite Formation by Superoxide Radicals Indian journal of biochemistry & biophysics Vol. 37, June 2000, pp. 201-204

4. Биссвангер Х. Практическая энзимология / Х. Биссвангер. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2013. 328 с.

5. Verma S., Dubey R.S. Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants Plant Science. 2003. V. 164. P. 645–655.

6. Г. Н. Чупахина, П. В. Масленников, Л. Н. Скрышник, Н. Ю. Чупахина, П. В. Федурев Антиоксидантные свойства культурных растений Калининградской области. – Калининград: Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, 2016.

МОДЕЛИРОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ДОЗ ПРИ НЕЙТРОНОЗАХВАТНОЙ ТЕРАПИИ СРЕДСТВАМИ СИСТЕМЫ ПЛАНИРОВАНИЯ ДИСТАНЦИОННОЙ НЕЙТРОННОЙ ТЕРАПИИ НА БАЗЕ ГЕНЕРАТОРА НГ-24МТ

А.Н. Соловьев^{1,2}, Я.В. Кизилова¹

¹ Медицинский радиологический научный центр имени А.Ф. Цыба – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Обнинск, Россия

² Обнинский институт атомной энергетики – филиал Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Обнинск, Россия
e-mail: salonf@mrrc.obninsk.ru

Резюме. В работе рассматриваются возможности математического моделирования биологической дозы при нейтронозахватной терапии, определяемой согласно международным публикациям МАГАТЭ и на основании формализма линейно-квадратичной модели, на основе моделирования взаимодействия медленных, тепловых и быстрых нейтронов с использованием действующей системы планирования дистанционной нейтронной терапии, задаваемых фазовым портретом, полученным от средств Монте-Карло моделирования общего назначения.

Ключевые слова: Монте-Карло моделирование, нейтронозахватная терапия, комплекс нейтронной терапии, Geant4, MCNP, биологическая доза

APPLICATION OF EXTERNAL BEAM NEUTRON THERAPY TREATMENT PLANNING SYSTEM FOR NG-24MT GENERATOR TO SIMULATION OF NEUTRON CAPTURE THERAPY BIOLOGICAL DOSES

A.N. Solovev^{1,2}, Ya.V. Kizilova¹

¹ A. Tsyb Medical Radiological Research Center – Branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

² Obninsk Institute for Nuclear Power Engineering, Obninsk, Russia
e-mail: salonf@mrrc.obninsk.ru

Summary. This paper explores the potential of mathematical modeling of the biological dose in neutron capture therapy, determined in accordance with international IAEA publications and based on the linear-quadratic model formalism. Simulation performed engine for slow, thermal, and fast neutrons by the dose of an external beam neutron therapy planning system features, and utilizes the phase space obtained from general-purpose Monte Carlo modeling tools.

Key words: Monte-Carlo simulation, neutron capture therapy, neutron therapeutic facility, Geant4, MCNP, biological dose

Нейтроннозахватная терапия является одним из передовых исследовательских направлений в рамках современных подходов лучевой терапии злокачественных новообразований. В то же время, эффекты, вызываемые компонентами нейтронной дозы по отдельности, и описываемые публикациями МАГАТЭ [1], могут не в полной мере отражать эффективность и безопасность терапии. В этой связи становится актуальным осуществление прецизионных расчётов эффектов нейтронозахватной терапии, выраженных в виде биологической дозы на основании формализма линейно-квадратичной модели описания действия ионизирующих излучений.

Целью работы являлось формирование оценок поглощённых доз на основании предположения о независимости действия и аддитивности эффектов от компонент,

возникающих в ходе реакций нейтронов разных энергий с телом пациента в предположении равновероятного гомогенного накопления ^{11}B опухолевыми объемами и здоровым мозгом с использованием ранее разработанной системы планирования для комплекса дистанционной нейтронной терапии на базе генератора НГ-24МТ (разработка ФГУП ВНИИА им. Н.Л. Духова).

В качестве основной методики проведения модельных экспериментов использовали систему планирования дистанционной нейтронной терапии NGPlan (разработка МРНЦ им. А.Ф. Цыба), построенную на базе средства Монте-Карло моделирования общего назначения Geant4. В качестве входных данных источника использовались спектральные характеристики реактора МАРС [2], получаемые из среза фазовой плоскости в рамках среды Монте-Карло моделирования общего назначения MCNP путём эквивалентных [3] преобразований. Для проведения оценок было отобрано 13 пациентов из числа пролеченных на комплексе протонной терапии «Прометеус» (МРНЦ им. А.Ф. Цыба), при этом преобразование тканей пациентов для расчётной среды было оптимизировано на базе решения, описанного в [4]. Расчёт всех дозиметрических показателей проводился в автоматизированном режиме с использованием [5]. Расчёт эффективности протонной компоненты нейтронной дозы рассчитывался как на основании данных [1], так и методом, описанным в [6]. Расчёт эффективности остальных компонент также рассчитывался как на основании данных [1], так и по собственной универсальной методике, описанной для применения в лучевой терапии ионами углерода [7]. Дополнительно рассчитывались физические интегральные дозы. В качестве базовой оценки накопления исходили из предположения, что препарат бора имеет 100% обогащение по ^{11}B и накапливается в концентрациях: большой опухолевый объём (GTV) 65 ppm, клинический объём мишени (CTV) 35 ppm, планируемый объём облучения (PTV) 16 ppm, здоровый мозг 10 ppm.

В ходе выполнения исследований было показано, что наилучший средний показатель около-максимальной (D_2) дозы в большом опухолевом объёме при условии сохранения средней дозы в здоровом мозге на уровне 6 Гр (ИзоЕ) составил 100 Гр (ИзоЕ) (диапазон от 72,7 до 125,3 Гр (ИзоЕ)), при этом около-максимальная нагрузка на здоровый мозг ни в одном из рассмотренных случаев не превышала 40 Гр (ИзоЕ) (диапазон 34,17-40,80 Гр (ИзоЕ)), где в качестве единицы Гр (ИзоЕ) применяется определение [1] с показателями $RBE_{\text{H}}=3,2$; $RBE_{\text{N}}=3,2$, $\text{CBE}=3,8$, $RBE_{\gamma}=1,0$). При этом оценки в терминах биологической дозы в рамках альтернативного сценария оценок не отличаются более, чем на 15% по абсолютной величине, что, в целом, является удовлетворительной характеристикой для моделей подобного рода.

В рамках дальнейшего направления работ предполагается расширение групп пациентов, в том числе в зависимости от локализации и места расположения опухоли в тканях, улучшение производительности моделирования, а также автоматизация построения схем безопасного лечения, так как критерий средней дозы в здоровом мозге в данном случае использования в выбранных концентрациях не позволяет обеспечить дисконтируемый критерий по около-максимальной дозе (обычно, согласно [1], принимается не более 12 Гр (ИзоЕ)). Помимо этого, перспективной тематикой будут выполнения оценок динамического подведения фракций нейтронных доз, например, рассмотрение случаев неомогенного накопления препарата в опухоли, в том числе получаемые на базе снимков позитронно-эмиссионной томографии, и ротация пациента относительно выводного канала.

Обозначенные результаты являются многообещающими, а рассмотренные аспекты универсализации методов расчёта быстрой дистанционной и нейтронзахватной терапии помогут в дальнейшем на пути широкого внедрения обеих технологий в рутинную клиническую практику.

1. International Atomic Energy Agency. Advances in boron neutron capture therapy / International Atomic Energy Agency. – Vienna: International Atomic Energy Agency, 2023. – 432 с.
2. Кураченко Ю.А., Моисеенко Д.Н. МАРС и ТАПРО: реакторы малой мощности для нейтронозахватной терапии // Ядерная энергетика. – 2010. – №1 – С. 153-163
3. Соловьев А.Н., Кизилова Я.В., Чернуха А.Е., Мерзликин Г.В., Корякин С.Н. Программное средство универсального преобразования фазовых пространств в форматы оперативного доступа. Свидетельство о гос. регистрации ПЭВМ № 2024660249 от 03.05.2024 // Программы для ЭВМ. Базы данных. Топологии интегральных микросхем. Официальный электронный бюллетень Роспатента Москва, РОСПАТЕНТ. 2024. Бюл. № 5
4. Соловьев А.Н., Кизилова Я.В., Корякин С.Н. Программное средство преобразования медицинских изображений отраслевого стандарта DICOM в форматы оперативного доступа. Свидетельство о гос. регистрации ПЭВМ № 2023685423 от 27.11.2023 // Программы для ЭВМ. Базы данных. Топологии интегральных микросхем. Официальный электронный бюллетень Роспатента Москва, РОСПАТЕНТ. 2023. Бюл. № 12
5. Шершнев Р.В., Соловьев А.Н., Сабуров В.О., Моисеев А.С., Сабитов А.Б., Казаков Е.И., Литун Е.В., Автоматизированное средство мультиплатформенного интерактивного запуска расчета. Свидетельство о гос. регистрации ПЭВМ № 2023685657 от 29.11.2023 // Программы для ЭВМ. Базы данных. Топологии интегральных микросхем. Официальный электронный бюллетень Роспатента Москва, РОСПАТЕНТ. 2023. Бюл. № 12
6. Гордон К.Б., Сабуров В.О., Корякин С.Н., Гулидов И.А., Фатхудинов Т.Х., Арутюнян И.В., Каприн А.Д., Соловьев А.Н., Расчёт биологической эффективности протонной компоненты при нейтронном облучении 14.8 МэВ методами вычислительной биологии с использованием видеокарт // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2022. Т. 173. № 2. С. 263-267
7. Solovev A., Troshina M., Saburov V., Chernukha A., Moiseev A., Koryakina E., Potetnyia V., Koryakin S., Pikalov V., Soldatov A., Kaprin A. In vitro modified microdosimetric kinetic model-based predictions for B14-150 cells survival in 450 MeV/u carbon ion beam with aluminum ridge filter for biologically optimized spread-out Bragg peak // Biomedical Physics and Engineering Express. 2022. Vol. 8. No 3. pages 035030 doi: 10.1088/2057-1976/ac414f.

ПРОТОННАЯ ТЕРАПИЯ: ВЛИЯНИЕ НА ПОВЕДЕНИЕ И МИКРОГЛИАЛЬНЫЙ СТАТУС МЫШЕЙ

С.С. Сорокина, А.Е. Мальков, А.Е. Шемяков, О.М. Розанова, Е.Н. Смирнова
Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия
e-mail: sorokinasvetlana.iteb@gmail.com

Резюме. Оценено влияние протонов на головной мозг мышей по изменению поведения и морфологии гиппокампальных микроглиальных клеток. Показано отсутствие изменений в поведении и гиппокамп-опосредованной памяти относительно контроля, однако, выявлено нарушение эпизодической памяти. Наблюдаемая динамика изменения морфологии микроглиальных клеток вероятно свидетельствует о возникновении адаптивных реакций, ограничивающих острое нейровоспаление и предотвращающих дальнейшее повреждение клеток головного мозга.

Ключевые слова: протоны, лучевая терапия, когнитивные нарушения, гиппокамп, микроглия, мыши

PROTON THERAPY: EFFECTS ON BEHAVIOR AND MICROGLIAL STATUS IN MICE

S.S. Sorokina, A.E. Malkov, A.E. Shemyakov, O.M. Rozanova, E.N. Smirnova
Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, RAS, Pushchino, Russia
e-mail: sorokinasvetlana.iteb@gmail.com

Summary. The effect of protons on the mouse brain was assessed by changes in the behavior and morphology of hippocampal microglial cells. The absence of changes in behavior and hippocampus-mediated memory to compare the control animals was shown, however, an impairment of episodic memory was revealed. The observed dynamics of changes in the morphology of microglial cells probably indicates the emergence of adaptive reactions that limit acute neuroinflammation and prevent further damage to brain cells.

Key words: protons, radiation therapy, cognitive impairment, hippocampus, microglia, mice

В настоящее время достоверно известно, что отдалённым эффектом стандартной лучевой терапии злокачественных новообразований при использовании гамма- или рентгеновского излучения являются стойкие когнитивные нарушения, которые могут существенно снизить качество жизни пациентов. Основная часть исследований по влиянию протонного облучения, которое в настоящее время рассматривается в качестве перспективной альтернативы в лечении радиорезистентных опухолей и опухолей, расположенных вблизи критических органов, на когнитивные способности лабораторных животных и их связь с морфологическими изменениями в головном мозге проведена в диапазон низких доз (< 1 Гр) и средних доз (< 4 Гр). Эти данные весьма противоречивы, поскольку исследования различаются по качеству, характеристикам и дозам используемого облучения, срокам и продолжительности тестирования, методам наблюдения и моделям животных. При этом в последние несколько лет одним из перспективных направлений развития протонной терапии является разработка и применение новых схем гипофракционированного облучения опухолей, при которых суммарная очаговая доза 60-80 Гр будет доставляться в опухоль за небольшое количество фракций.

Целью настоящего исследования было изучение когнитивных функций и динамики изменения морфологических параметров клеток микроглии гиппокампа после облучения головы мышей тонким сканирующим пучком протонов с энергией 85–100 МэВ в дозе 7,5 Гр на протонном синхротроне (Комплекс протонной терапии “Прометеус”, ФТЦ ФИАН, Протвино).

Эксперименты проведены на мышах-самцах SHK в возрасте двух месяцев (n=50). Через два месяца после облучения мышей тестировали на общую активность, пространственное обучение, а также долговременную и кратковременную память, зависящую от гиппокампа. Для оценки морфологических показателей микроглии мозг контрольных и облученных животных в разное время после протонного облучения (24 часа, 7 дней, 1 месяц) окрашивали с помощью микроглиального маркера Iba-1.

Полученные в нашей работе результаты продемонстрировали изменение морфологии клеток микроглии гиппокампа, свидетельствующее о переходе клеток в активированное состояние, и небольшое снижение плотности клеток уже через сутки после воздействия, которая вернулась к контрольному уровню через 1 месяц.

Через два месяца после воздействия у мышей не было обнаружено изменений в поведении и дефицита кратковременной и долговременной гиппокамп-зависимой памяти, однако, наблюдалось ухудшение эпизодической памяти.

Мы полагаем, что облучение протонами в дозе 7,5 Гр, с одной стороны, оказывает существенное повреждающее воздействие на мозг, вызывая окислительный стресс, при котором клеточные изменения, наблюдаемые в гиппокампе в первые дни после облучения, приводят к активации пролиферации, а через 30 дней - к восстановлению плотности микроглии. Это, в свою очередь, служит сдерживающим фактором для дальнейшего воспалительного каскада, осуществляя защитную функцию мозга. С другой стороны, выбранная доза, по-видимому, недостаточна для устойчивого морфологического ответа активированной микроглии через 30 дней после облучения.

Полученные результаты могут стать многообещающими в перспективе использования высоких доз протонов на фракцию для облучения опухолей головы, при которых относительный объем облучаемой площади будет значительно меньше, что, вероятно, уменьшит не только площадь воспалительной реакции, но и риск когнитивного дефицита, опосредованного гиппокампом. В настоящее время предлагается разработать фармакологические подходы, включающие ингибирование ранних пострадиационных воспалительных процессов в головном мозге, что позволит предотвратить развитие длительных когнитивных дисфункций. В целом наше исследование позволяет предположить, что медленное и постепенное начало повреждения клеток гиппокампа при облучении протонами в дозе 7,5 Гр дает возможность возникновения адаптивных реакций, ограничивающих острое нейровоспаление и предотвращающих дальнейшее повреждение клеток головного мозга. Таким образом, планирование радиотерапии с учетом чувствительности и адаптивности структур головного мозга, в которых локализуется опухоль, позволяет предотвратить негативные последствия и сохранить когнитивные функции, существенно не снижая качества жизни пациентов.

ЧАСТОТА ДОМИНАНТНЫХ ЛЕТАЛЬНЫХ МУТАЦИЙ У *DROSOPHILA MELANOGASTER* ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО И НЕИОНИЗИРУЮЩЕГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ИЗЛУЧЕНИЙ

Е.В. Стяжкина¹, Ю.Р. Ахмадуллина¹, Ю.В. Гайнетдинова¹, Е.А. Пряхин²

¹ФГБОУ ВО Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия

²ФГБУН Уральский научно-практический центр радиационной медицины ФМБА России, Челябинск, Россия

Резюме. Методом доминантных летальных мутаций оценивали частоту эмбриональной гибели *Drosophila melanogaster* при комбинированном облучении γ -излучением и неионизирующим импульсным магнитным полем при разных дозах и режимах воздействия. Мутагенный эффект при комбинированном действии излучений имеет антагонистический характер взаимодействия. Антагонизм более выражен при облучении в следующем режиме: сначала экспозиция импульсным магнитным полем в течение 5 ч, затем воздействие γ -излучением в дозах 3, 10, 60 Гр.

Ключевые слова: гамма-облучение; импульсное магнитное поле; комбинированное действие; доминантные летальные мутации; *Drosophila melanogaster*

DOMINANT LETHAL MUTATIONS FREQUENCY OF THE DEATH OF *D. MELANOGASTER* UNDER EXPOSURE TO COMBINED IONIZING AND NON-IONIZING ELECTROMAGNETIC RADIATION

E.V. Styazhkina¹, Yu.R. Akhmadullina¹, Yu.V. Gainetdinova¹, E.A. Pryakhin²

¹Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia

²Urals Research Center for Radiation Medicine, Chelyabinsk, Russia

Summary. The method of dominant lethal mutations was used to estimate the frequency of the death of *D. melanogaster* embryos under combined exposure to ionizing γ -radiation and non-ionizing pulsed magnetic field at various doses and modes of exposure. Mutagenic effect under combined exposure is antagonistic in nature. The antagonism is more pronounced when the following mode of exposure is used: first exposure to PMF for 5 h, then exposure to γ -radiation at a dose 3, 10, 60 Gy.

Key words: γ -exposure, pulsed magnetic field, combined effect, dominant lethal mutations, *Drosophila melanogaster*.

В реальных условиях ни один из неблагоприятных факторов не действует сам по себе, изолированно, в том числе и электромагнитные излучения разных энергий. Диапазон внедрения источников электромагнитных полей неуклонно и неизбежно возрастает, происходит переход на более высокие частоты спектра электромагнитного диапазона для работы приборов медицинского, военного назначения, мобильной связи и приложений, в частности, внедряется использование диапазонов 28, 37 и 39 ГГц для связи пятого поколения [1], что сильно опережает наше биологическое понимание эффектов действия электромагнитных излучений [2,3]. Имеющиеся данные относительно комбинированного действия очень скудны и не позволяют получить целостного представления о характере взаимодействия ионизирующих и неионизирующих излучений — аддитивном, синергичном, антагонистическом или независимом [4,5]. Цель данной работы — определить характер взаимодействия электромагнитных излучений ионизирующего и неионизирующего диапазонов по критерию эмбриональной гибели *Drosophila melanogaster* с помощью метода доминантных летальных мутаций (ДЛМ).

Материалы и методы: Приготовление питательной среды и культивирование *D. melanogaster* линии Canton-S проводили стандартным способом [6]. Воздействию излучений подвергали половозрелых самцов (по 30 самцов для каждой

экспериментальной точки). В течение 2-3 ч после воздействия облучённых самцов скрещивали с интактными виргинными самками в соотношении 1:1. Затем самок пересаживали в чашки Петри с агаром для посева яиц, через 48 ч их извлекали из чашек, а ещё через 48 ч проводили визуальный подсчёт развившихся яиц и яиц с погибшими эмбрионами. Процентное отношение яиц с погибшими эмбрионами к общему числу яиц принимали за частоту ДЛМ.

Облучение мух проводили в экспериментальной исследовательской гамма-установке ИГУР-1М с мощностью дозы 0.8 Гр/мин и неравномерностью γ -поля меньше 5%. Для индукции ИМП был использован генератор Шахпаронова, предназначенный для оценки влияния ИМП на биологические объекты. Он имеет следующие параметры: импульс треугольной формы с длительностью импульса 0.1 мкс по уровню амплитуды 0.5 длительностью фронта 0.05 мкс, длительностью спада 250 нс. Частота повторения импульсов 1.7 МГц. Индукция магнитного поля генератора в месте расположения биологических объектов составляет 16 мТл в импульсе. ИМП данной характеристики имеет нетепловой механизм взаимодействия с веществом.

Для определения частоты ДЛМ при комбинированном действии излучений были выбраны дозы γ -облучения 3, 10, 20 и 60 Гр и длительностью экспозиции ИМП 5 ч [3]. При этом оценивали два варианта комбинирования факторов: первый — сначала объекты подвергали γ -облучению в соответствующей дозе, после чего проводили экспозицию ИМП в течение 5 ч; второй — сначала проводили экспозицию ИМП в течение 5 ч, после чего подвергали остроуму γ -облучению в соответствующей дозе. Время между облучениями составляло не более 5 мин.

Для оценки типа комбинированного эффекта мы рассчитывали значение ожидаемой частоты ДЛМ, которое выражали как ожидаемый аддитивный эффект от действия двух факторов согласно формуле: $P_{\Sigma} = 1 - (1 - P_a) \times (1 - P_b)$, где P — ожидаемый аддитивный эффект от действия двух факторов; P_a — эффект от действия первого фактора; P_b — эффект от действия второго фактора [7]. При этом статистически значимые отличия при сравнении экспериментально полученных данных комбинированного действия факторов и рассчитанной ожидаемой аддитивной частотой ДЛМ указывали на тип комбинированного взаимодействия. При значимом снижении экспериментально полученной частоты ДЛМ эффект взаимодействия оценивали как антагонистический, при значимом увеличении — как синергичный, при отсутствии отличий — как аддитивный.

Результаты исследования. При первом варианте комбинирования факторов, когда объекты сначала подвергали γ -облучению в соответствующей дозе, а после проводили экспозицию ИМП в течение 5 ч, частота ДЛМ была значимо ниже ожидаемого эффекта при дозах γ -облучения 3 Гр на 30 % ($p=0,04$) и 10 Гр на 25 % ($p=0,04$). При облучении в дозе 20 Гр частота ДЛМ на 24 % превышала ожидаемый эффект ($p<0.001$); при облучении в дозе 60 Гр с последующим воздействием ИМП значимых отличий от ожидаемого эффекта не обнаружено.

При обратном варианте комбинированного воздействия (сначала экспозиция ИМП 5 ч, затем острое γ -облучение) обнаружено снижение частоты ДЛМ при всех дозах облучения — на 50 % при облучении 3 Гр ($p<0.001$), на 38 % при облучении 10 Гр ($p=0.003$), на 10 % при облучении 20 Гр (хотя это снижение было статистически недостоверно), и на 17 % при 60 Гр ($p<0.001$).

Таким образом, комбинирование ионизирующего и неионизирующего электромагнитных излучений приводит к мутагенному эффекту, который имеет антагонистический характер взаимодействия. Полученные результаты свидетельствуют, что при облучении в режиме "сначала экспозиция ИМП 5 ч, затем γ -облучение" антагонизм более выражен. При обратном порядке действия излучений отмечено значимое проявление антагонистического эффекта при дозах облучения 3 и 10 Гр, а при дозе 20 Гр, наоборот, наблюдался синергический тип взаимодействия.

1. Григорьев О.А., Никитина В.Н., Носов В.Н., Пекин А.В., Алексеева В.А., Дубровская Е.Н. Электромагнитная безопасность населения. Национальные и международные нормативы электромагнитных полей радиочастотного диапазона // Здоровье населения и среда обитания — ЗНиСО. 2020. № 10. С. 28-33. doi: 10.35627/2219-5238/2020-331-10-28-33
2. Пряхин Е.А., Аклеев А.В. Влияние неионизирующих электромагнитных излучений на животных и человека. Челябинск, 2006.
3. Akhmadullina Y.R., Styazhkina E.V., Gainetdinova Y.V., Petrova A.V. Mutation effect of ionizing and non-ionizing electromagnetic radiation on *Drosophila melanogaster* // Bull. Exp. Biol. Med. 2023. Vol. 174, N 5. P. 670-673. doi: 10.1007/s10517-023-05766-6
4. Петин В.Г., Дергачева И.П., Жураковская Г.П. Комбинированное биологическое действие ионизирующих излучений и других вредных факторов окружающей среды (научный обзор) // Радиация и риск. 2001. № 12. С. 117-134.
5. Алмазова, Е. Б. Микроволны изменяют сопротивляемость живых организмов по отношению к ионизирующей радиации / Е. Б. Алмазова, Б. Г. Емец // Восточно-Европейский журнал передовых технологий. – 2012. – Т. 4, № 9(58). – С. 19-23.
6. Прохорова И.М., Ковалева М.И., Фомичева А.Н. Генетическая токсикология: лабораторный практикум. Ярославль, 2005.
7. Копанев В.А. О расчете ожидаемого аддитивного эффекта комбинированного или комплексного действия ядов // Гигиена и санитария. 1980. № 6. С. 59-61. DOI: 10.31857/S0006302922020144

ВОЗДЕЙСТВИЕ ОБЛУЧЕНИЯ ИОНАМИ УГЛЕРОДА ^{12}C НА ЗРИТЕЛЬНОМОТОРНОЕ ПОВЕДЕНИЕ ОБЕЗЬЯН

*Л.В. Терешченко¹, Ю.В. Бородачева^{1,2}, Л.С. Жиганов^{1,2}, Э.Р. Иمامев¹,
А.В. Латанов¹*

¹ Биологический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

² Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия
e-mail: lter@mail.ru

Резюме. Исследовали выполнение зрительно-моторного инструментального условного рефлекса, латентные периоды саккад и мануальных реакций до и после краниального облучения ядрами углерода ^{12}C (400 МэВ, 2 Гр) на трёх обезьянах (самцы *Macaca mulatta*). Результаты свидетельствуют об устойчивости системных механизмов инструментальной деятельности к радиационному воздействию ядрами ^{12}C . Однако у двух обезьян выявлено незначительное замедление инициации движений глаз, что, предположительно, свидетельствует о ранних нарушениях процессов зрительно-моторной интеграции и исполнительного контроля.

Ключевые слова: обезьяны, инструментальное поведение, радиационное излучение, ионы углерода ^{12}C , саккады, мануальные реакции, внимание

IMPACT OF CARBON ^{12}C IONS ON VISUOMOTOR PERFORMANCE IN NONHUMAN PRIMATES

*L.V. Tereshchenko¹, Yu.V. Borodachyova^{1,2}, L.S. Zhiganov^{1,2}, E.R. Imameev¹,
A.V. Latanov¹*

¹ Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

² Institute for Higher Nervous Activity and Neurophysiology of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
e-mail: lter@mail.ru

Summary. Instrumental conditioned task performance accuracy, saccadic and manual latencies before and after cranial irradiation with carbon ^{12}C ions (400 MeV, 2 Gy) were studied in three male monkeys (*Macaca mulatta*). The results demonstrated the stability of the systemic mechanisms that control the instrumental performance to radiation exposure to carbon ^{12}C ions. However, a slowing in the initiation of saccadic eye movements in two monkeys, presumably, indicates early disorders in the processes of visuomotor integration and executive control.

Key words: nonhuman primates, instrumental performance, ionizing radiation, carbon ^{12}C ions, saccades, manual reaction, attention

Во время дальних космических полетов радиационные воздействия галактических космических лучей (ГКЛ) на организм человека являются трудно преодолимым фактором, который неизбежно вызывает риск ранних поражений функций мозга. ГКЛ представляют собой высокоэнергетические ускоренные ядра химических элементов, среди которых ядра тяжёлых элементов составляют малую часть, но при этом оказывают наиболее тяжёлое повреждающее воздействие на организм, включая нервную систему. ГКЛ могут вызывать нарушения поведения, когнитивной сферы в целом и, как следствие, операторской деятельности у космонавтов. В обеспечении операторской деятельности центральная роль принадлежит зрительной системе, а также функционально связанными с ней глазодвигательной и экстрапирамидной системам. Эти системы достигли наибольшего развития у приматов, включая человека. Поэтому исследования нарушений зрительно-моторного поведения (включающего также движения глаз), вызванных радиационными воздействиями, необходимо исследовать на обезьянах.

Целью работы является изучение зрительно-моторной и манипулятивной деятельности обезьян после облучения мозга ядрами углерода ^{12}C .

Три обезьяны О1, О2 и О3 (самцы *Macaca mulatta* возраста 10-11 лет) ранее облученные высокоэнергетическими протонами (170 МэВ, 3 Гр) предварительно были обучены выполнять условнорефлекторную инструментальную задачу, включающую совершение зрительно вызванных саккад к периферическим стимулам (ПС) с последующим выполнением мануальных инструментальных реакций в ответ на незначительное приращение ПС. ПС предъявляли в одном из 34-х положений в прямоугольном зрительном поле 39х26 угловых градусов. После завершения контрольной серии обезьян подвергли краниальному облучению ионами углерода ^{12}C (400 МэВ, 2 Гр) на ускорителе ИФВЭ (г. Протвино, Московская обл.). На протяжении трёх месяцев после облучения в течение каждого экспериментального дня три раза в неделю обезьяны выполняли 900-2000 проб инструментальной задачи с разными комбинациями временных и пространственных параметров предъявления зрительных стимулов. По результатам экспериментов анализировали поведенческие показатели животных при выполнении инструментальной задачи, в т.ч. латентные периоды (ЛП) саккад и мануальных реакций.

После облучения ионами углерода все обезьяны продолжали успешно выполнять инструментальную задачу (90-95%% корректных реакций) на протяжении всего периода наблюдений.

У обезьяны О1 в первые три дня после облучения отмечалось увеличение ЛП саккад на 10-13% с последующим возвратом к контрольным значениям (до облучения). У обезьяны О2 в период 16-35 дни после облучения наблюдались отдельные экспериментальные дни с укороченными на 6-7% ЛП саккад. У обезьяны О3 после облучения наблюдалась тенденция к увеличению ЛП саккад с достижением превышения на 6-8% на 71-77 дни после облучения по сравнению с контролем. ЛП мануальных инструментальных реакций у всех обезьян не претерпели каких-либо значимых изменений.

У обезьян О1 и О2 не наблюдалось достоверных изменений ЛП саккад в зависимости от длительности временной задержки при смене стимулов (фиксационного в центре зрительного поля и ПС) в Гар-интервале. Обезьяна О3 после облучения демонстрировала увеличение ЛП саккад до 20% для длительностей Гар-интервала 300-400 мс.

Полученные результаты свидетельствуют об устойчивости выполнения обезьянами инструментальной задачи к облучению ионами углерода ^{12}C . Однако при этом возможны нарушения процессов зрительно-моторной интеграции, переключения зрительного внимания и исполнительного контроля, что отражалось в увеличении ЛП саккад и мануальных реакций. Предположительно, такие эффекты могут проявиться в ухудшении временных параметров операторских действий человека, что может быть критично для сложной и разнообразной деятельности человека в условиях дальних космических экспедиций.

Исследование выполнено при финансовой поддержке в рамках научного проекта государственного задания МГУ №121032500080-8.

ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ 3D-ПЕЧАТНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ ГЕНИСТЕИНА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОГО РАДИОЗАЩИТНОГО СРЕДСТВА

В.В. Тихонова, О.Ю. Стрелова, А.Н. Гребенюк

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Санкт-Петербург, Россия
e-mail: viktoriya.tichonova@pharminnotech.com

Резюме. Генистеин представляет собой изофлавоны, обладающий радиозащитной, противовоспалительной и противоопухолевой активностью. Представляется перспективной разработка лекарственного средства на его основе, однако его плохая растворимость является препятствием для создания классических лекарственных форм. Для преодоления этого препятствия предлагается разработать лекарственную форму генистеина с применением технологии трехмерной печати методом FDM.

Ключевые слова: генистеин, 3D-печатные лекарственные формы, радиозащитные средства, активная фармацевтическая субстанция.

PROSPECTS FOR CREATION OF 3D PRINTED DOSAGE FORMS OF GENISTEIN AS A POTENTIAL RADIOPROTECTIVE AGENT

V.V. Tikhonova, O.Yu. Strelova, A.N. Grebenyuk

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University" of the Ministry of Health
of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia
email: viktoriya.tichonova@pharminnotech.com

Summary. Genistein is an isoflavone that has radioprotective, anti-inflammatory and antitumor activity. It seems promising to develop a drug based on it but its poor solubility is an obstacle to the creation of classical dosage forms. To overcome this obstacle, it is proposed to develop a dosage form of genistein using FDM 3D printing technology.

Key words: genistein, 3D printed dosage forms, radioprotective agents, active pharmaceutical substance.

Крайне ограниченный спектр препаратов в настоящее время применяется для профилактики и лечения радиационных поражений. В России зарегистрировано всего два наименования такого класса лекарств: Б-190 (индралин) и WR-2721 (Amifostine, Ethyol). Однако кроме уже ставших классическими радиозащитных средств существует достаточно потенциально активных веществ, которые можно применить в качестве радиомитигаторов, включить в состав рецептур, снижающих выраженность лучевого воздействия и токсичность отдельных радиозащитных средств [1, 2].

Одной из перспективных в этом отношении химических групп являются фенольные соединения, среди которых выгодно отличаются изофлавоны, входящие в состав антиоксидантной системы растений. Наиболее известным представителем этой группы можно назвать генистеин, оценка радиозащитного действия которого показала повышение показателей выживаемости и состояния гемопоэза у мышей. Кроме того, субстанция генистеина обладает противовоспалительной и противоопухолевой активностью [3, 4].

Препятствием для широкого применения генистеина можно назвать его особенности его растворимости, затрудняющую разработку лекарственных форм на его основе, анализ субстанции и препаратов: он практически нерастворим в воде, легко растворим в ДМСО, умеренно растворим в 95% спирте, мало растворим в метаноле, очень мало растворим в ацетонитриле, практически нерастворим в хлороформе.

Различные физико-химические подходы могут быть использованы для повышения растворимости и биодоступности фармацевтических субстанций: уменьшение размеров частиц, модификация кристаллической структуры, получение твердых дисперсий ЛВ с наполнителями. Согласно полученным данным, для решения проблемы введения в лекарственные формы малорастворимых соединений возможно также применение технологии трехмерной печати методом FDM (fused deposition modeling). В отличие от традиционного производства таблеток, состоящего в основном из прессования смеси порошков или гранул, относительно высокая температура процесса FDM может существенно повлиять на свойства ингредиентов рецептуры. Это может привести к физико-химическим изменениям действующего вещества, вызывая его аморфизацию или образование жидких кристаллов, что может улучшить скорость растворения лекарственного средства [3, 4].

На наш взгляд перспективна разработка лекарственной формы генистеина методом 3D печати, поскольку это позволит создать и в дальнейшем зарегистрировать новое полноценное радиозащитное средство, способное оказывать терапевтическое действие как на этапе острого воздействия излучения, так и на этапе лечения отдаленны последствий воздействия радиации на организм человека.

1. Singh VK, Romaine PLP, Newman VL, Seed TM. Medical countermeasures for unwanted CBRN exposures: part II radiological and nuclear threats with review of recent countermeasure patents. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 2016, 26(12), 1399-1408; <https://doi.org/10.1080/13543776.2016.1231805>.
2. Гребенюк А.Н., Гладких В.Д. Современное состояние и перспективы разработки лекарственных средств для профилактики и ранней терапии радиационных поражений. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2019, 59(2), 132-149; <https://doi.org/10.1134/S0869803119020085>.
3. Гребенюк А.Н., Тарумов Р.А., Башарин В.А., Пастушенков В.Л., Ковтун В.Ю. Экспериментальная оценка влияния синтетического генистеина на гематологические показатели и цитокиновый статус облученных крыс. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2015, 55(2), 160-168.
4. Гребенюк А.Н., Тарумов Р.А., Башарин В.А., Ковтун В.Ю. Экспериментальная оценка радиозащитной эффективности синтетического генистеина по показателям системы глутатиона и перекисного окисления липидов в эритроцитах периферической крови облученных крыс. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2015, 55(5), 501-506.
5. Тихонова В. В., Терентьева О. А., Гусев К. А., Флисюк Е. В., Маймистов Д. Н. Разработка и валидация методики определения подлинности рамиприла в экструдате и напечатанных таблетках // *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022. Т. 11. N 4. С. 209–215. [Doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4-209-215](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4-209-215).
6. Канюкова, А. И. Обзор особенностей составления спецификации на 3D напечатанных таблеток / А. И. Канюкова // *Молодая фармация - потенциал будущего : Сборник материалов конференции, Санкт-Петербург, 01 марта – 11 2023 года. – Санкт-Петербург: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2023. – С. 201-205.*

ВЫЖИВАЕМОСТЬ И ИНДУКЦИЯ АБЕРРАЦИЙ ХРОМОСОМ В КЛЕТКАХ КИТАЙСКОГО ХОМЯЧКА ПРИ ОДНОКРАТНОМ И СОЧЕТАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНАМИ УГЛЕРОДА И ПРОТОНАМИ

*М.В. Трошина¹, Е.В. Корякина¹, В.И. Потетня¹, В.О. Сабуров¹, А.Н. Соловьев¹,
В.А. Пикалов², С.Н. Корякин¹*

¹ Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава Российской Федерации, Обнинск, Россия

² ФГБУ «Институт физики высоких энергий им. А.А. Логунова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Протвино, Россия
e-mail: troshina-m-v@mail.ru

Резюме. На клетках китайского хомячка линии В14-150 была оценена биологическая эффективность однократного и сочетанного действия ускоренных протонов и ионов углерода. Облучение проводили в центре пика Брэгга и в проксимальной части кривой Брэгга. При однократном воздействии были определены ОБЭ указанных излучений, значения которых повышались с увеличением ЛПЭ, при сочетанном – уровень биологического эффекта в основном соответствовал независимому и синергическому действию в зависимости от схемы облучения.

Ключевые слова: ионы углерода, протоны, последовательное воздействие, клетки китайского хомячка, выживаемость, аберрации хромосом.

SURVIVAL AND CHROMOSOMAL ABERRATIONS INDUCTION IN CHINESE HAMSTER CELLS AFTER SINGLE AND COMBINED CARBON IONS AND PROTONS EXPOSURES

*М.В. Troshina¹, E.V. Koryakina¹, V.I. Potetnya¹, V.O. Saburov¹, A.N. Solovev¹, V.A. Pikalov²,
S.N. Koryakin¹*

¹ A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

² A.A. Logunov Institute for High Energy Physics of the National Research Centre «Kurchatov Institute», Protvino, Russia
e-mail: troshina-m-v@mail.ru

Summary. The biological effectiveness of single and combined irradiation of accelerated protons and carbon ions was assessed on Chinese hamster cell line B14-150. Cells were exposure at the center of the Bragg peak and at the proximal part of the Bragg curve. The RBE of these radiations were increased with the LET rising. The biological efficiency of combined irradiation with protons and carbon ions mainly corresponded to an independent and synergistic effect depending on the irradiation scheme.

Key words: carbon ions, protons, sequential exposure, Chinese hamster cells, survival, chromosome aberrations.

Для пучков тяжелых заряженных частиц, таких как ионы ¹²C, характерен сложный состав излучения, спектр и физические, а, следовательно, и биологические, характеристики которого изменяются на всём протяжении пробега первичных частиц. Это, в свою очередь, существенно усложняет планирование лучевой терапии и требует проведения физико-дозиметрических и радиобиологических исследований. При разработке схем сочетанной лучевой терапии эффективность воздействия также может зависеть от временного фактора, соотношения доз и последовательности облучения.

Цель работы заключается в определении биологической эффективности излучения ускоренных ионов в проксимальной области кривой Брэгга, центре немодифицированного и расширенного пика Брэгга пучков ионов, а также оценка эффективности сочетанного протон-ионного воздействия.

Исследования проводили на постоянной клеточной линии В14-150 (китайский хомячок, фибросаркома) в стационарной фазе роста культуры. Эффективность однократного и сочетанного воздействия оценивали по выживаемости клеток (метод макроколоний), в диапазоне низких доз частоту аберраций хромосом определяли с помощью метафазного метода анализа. Для статистической обработки результатов использовали стандартные методы. Оценку статистических различий между уровнями эффектов для схем последовательного облучения проводили с применением критерия Крамера-Уэлча ($p < 0.05$) [1]. Количественно уровень эффекта сочетанного действия определяли с помощью коэффициента эффективности К [2].

Облучение сканирующим пучком протонов выполняли на Комплексе протонной терапии «Прометеус» (АО «ПРОТОМ»), ионами ^{12}C – в Центре коллективного пользования «Радиобиологический стенд на углеродном пучке У-70» ИФВЭ им. А.А. Логунова. Эффективность однократного воздействия ионов ^{12}C (400-450 МэВ/н) оценивали в проксимальной части кривой Брэгга, области немодифицированного и центре расширенного пика Брэгга, протонов (83-135 МэВ) – в проксимальной и центре расширенного пика. Сочетанное облучение в центре расширенного пика Брэгга проводили с временными интервалами 0–4 ч по схемам со следующими последовательностями и соотношениями доз: 70%(p)+30%(^{12}C), 30%(^{12}C)+70%(p), 55%(p)+45%(^{12}C), 45%(^{12}C)+55%(p); в проксимальной части кривой Брэгга рассматривали один вариант: 0,24 Гр(^{12}C)+1 Гр(p) с интервалом 2 ч.

Дозовые зависимости после однократного воздействия протонами и ионами ^{12}C в проксимальной части кривой Брэгга удовлетворительно описывались линейно-квадратичной, в моноэнергетическом и центре расширенного пика – линейной моделью в полулогарифмической системе координат. Величина коэффициента ОБЭ увеличивалась с возрастанием ЛПЭ излучения: от 1 для протонов (~3 кэВ/мкм) до 4,2 для немодифицированного пика Брэгга (120–140 кэВ/мкм). При действии излучения в проксимальной области кривых Брэгга протонов и ионов ^{12}C проявлялся эффект гиперчувствительности и индуцированной радиорезистентности (ГЧ ИР).

При сочетанном облучении протонами и ионами ^{12}C в центре расширенного пика был показан синергизм при схеме воздействия 45%(^{12}C)+55%(p), независимое действия при схемах 30%(^{12}C)+70%(p) и 55%(p)+45%(^{12}C), антагонистическое при схеме 70%(p)+30%(^{12}C). Эффект сочетанного облучения в проксимальной части кривой Брэгга можно классифицировать как независимое действие.

В целом, полученные данные находятся в согласии с общеизвестными закономерностями. Более выраженный эффект сочетанного воздействия при последовательности ионы ^{12}C →протоны» вероятно связан с характером повреждений частицами с высокими ЛПЭ, которые не успевают репарироваться до второй фракции облучения. В части практической значимости, результаты для однократного действия ионов ^{12}C были использованы при верификации прототипа биологического модуля системы планирования ионной терапии.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России (соглашение от 05.10.2021 г. № 075-15-2021-1347).

1. Орлов, А. И. Проверка статистической гипотезы однородности математических ожиданий двух независимых выборок: критерий Крамера-Уэлча вместо критерия Стьюдента // Политем. сег. электрон. науч. журн. Кубан. гос. аграр. универ. – 2015. – № 110. – С. 197-218.
2. Обатуров, Г. М. Комбинированное действие излучения разного качества / Г. М. Обатуров, В. И. Потетня // Атомная энергия. – 1998. – Т. 84, № 1. – С. 42-50.

**ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ И ДРУГИХ
НЕРАДИАЦИОННЫХ ФАКТОРОВ НА СОСТОЯНИЕ КРОВЕТВОРЕНИЯ
В ГОЛОВНОЙ ПОЧКЕ У ПЛОТВЫ (*RUTILUS RUTILUS*)
В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN SITU***

М.В. Тюхтай¹, Г.А. Тряпицына^{1,2}, Е.А. Прыхин¹

¹Уральский научно-практический центр радиационной медицины ФМБА России,
Челябинск, Россия

²Челябинский государственный университет, Челябинск, Россия
e-mail: mvtiukhai@mail.ru

Резюме. Изучали реакцию гемопоэза у плотвы на радиационное воздействие и комплекс нерадиационных факторов, связанных с содержанием рыб в садках в эксперименте *in situ*. Содержание рыб в садке, приводит к стрессовой реакции для рыб и реализуется в повышении пролиферации и, соответственно, количества кроветворных клеток в головной части почек у рыб. Хроническое радиационное воздействие на рыб с мощностью дозы 19 мГр/сут. приводит к радиационно-индуцированной гибели кроветворных клеток и адаптивному повышению их пролиферации. Радиационное воздействие на рыб снижает адаптационные возможности гемопоэза на действие нерадиационных неблагоприятных факторов.

Ключевые слова: рыба, Теченский каскад водоемов, хроническое радиационное воздействие, нерадиационные факторы, адаптация, стресс

**ASSESSMENT OF THE EFFECT OF RADIATION EXPOSURE AND OTHER
NON-RADIATION FACTORS ON THE HEMATOPOIESIS IN THE HEAD KIDNEY
OF ROACH (*RUTILUS RUTILUS*) IN AN *IN SITU* EXPERIMENT**

M.V. Tyukhai¹, G.A. Tryapitsyna^{1,2}, E.A. Pryakhin¹

¹Urals Research Center for Radiation Medicine, Chelyabinsk, Russia

²Chelyabinsk State University, Chelyabinsk, Russia
e-mail: mvtiukhai@mail.ru

Summary. The reaction of hematopoiesis in roach to radiation exposure and to a complex of non-radiation factors associated with the keeping of fish in cages in an *in situ* experiment were studied. The keeping of fish in the cage leads to a stress reaction for fish and is realized in increasing the proliferation and, accordingly, the number of hematopoietic cells in the head part of the kidneys in fish. Chronic radiation exposure to fish with a dose rate of 19 mg/day leads to radiation-induced death of hematopoietic cells and an adaptive increase in their proliferation. Radiation exposure to fish reduces the adaptive capabilities of hematopoiesis to the non-radiative adverse factors.

Key words: fish, the Techa Reservoir Cascade, chronic radiation exposure, non-radiation factors, adaptation, stress

На Южном Урале (Челябинская область, Россия) в 40-х годах прошлого столетия для переработки делящихся материалов и производства оружейного плутония было создано Производственное объединение «Маяк». В 1949–1956 гг. экосистема реки Течи и прибрежные территории подверглись радиоактивному загрязнению в результате регламентных и аварийных сбросов жидких радиоактивных отходов ПО «Маяк» [1]. Всего за указанный период в реку было сброшено 76 млн. м³ сточных вод общей активностью около 115 ПБк (3,1×10⁶ Ки) по оценкам 1956 г [2]. В верховьях р. Теча был сформирован Теченский каскад водоемов (водоемы В-3, В-4, В-10, В-11), предназначенный для ограничения поступления радионуклидов в открытую гидрографическую сеть. В настоящее время рыбы в этих водоемах в течение нескольких поколений обитают в естественных природных экосистемах в условиях хронического радиационного

воздействия. Такая радиоэкологическая ситуация позволяет поставить проблему оценки адапционных возможностей у рыб при различных факторах воздействия.

Целью данной работы являлось изучение в эксперименте *in situ* адапционных реакций гемопоэза у плотвы (*Rutilus rutilus*) на хроническое радиационное воздействие и на комплекс нерадиационных факторов.

В эксперименте выполнено определение влияния на содержание кроветворных клеток в головной почке у плотвы следующих факторов: 1) хронического радиационного облучения; 2) комплекса факторов, связанных с изменением условий обитания рыб (ограничение миграции, изменение плотности популяции, режима питания и др.) при их временном содержании в садке (фактор обозначен «садок»).

Экспериментальные исследования, выполненные летом 2015 г., включали отлов и перемещение рыб из «чистого» водотока с фоновым уровнем содержания радионуклидов (река Миасс, Челябинская область) для временного содержания в садке «чистого» водотока (правобережный обводной канал ПО «Маяк») и в садке «грязного» водоема В-4, в котором суммарная активность β -излучающих радионуклидов в воде в среднем составляла 6,4 кБк/л, суммарная активность α -излучающих радионуклидов - в среднем 4,2 Бк/л. Мощность дозы для плотвы составляла 19 мГр/сут. [3]. Рыб, отловленных в водоеме В-4, перемещали в садок «чистого» водотока ПБК и в садок «грязного» водоема В-4. Рыб содержали в садках в течение 10 сут. На 10 сут. животных умерщвляли, извлекали почки, готовили гистологические препараты. На гистологических срезах определяли количество кроветворных клеток в головной части почек в поле зрения 0,92 мм².

В экспериментах *in situ* были получены следующие результаты. У рыб, обитающих в чистом водотоке (река Миасс) количество кроветворных клеток в головной части почек составило 873 ± 25 в поле зрения. Содержание плотвы в садке правобережного обводного канала привело к статистически значимому увеличению клеток до 1080 ± 70 , а при содержании в садке в водоеме В-4, привело к тому, что количество кроветворных клеток не отличалось от исходного - 870 ± 30 , что вероятно отражает радиационно-индуцированную гибель кроветворных клеток в радиоактивно-загрязненном водоеме. У рыб, обитающих в водоеме В-4, исходное содержание кроветворных клеток в головной части почки было статистически значимо выше, чем у рыб из водоема сравнения (река Миасс) и составило 1710 ± 60 . Такой более высокий уровень количества кроветворных клеток, очевидно, отражает адапционные реакции гемопоэза у рыб в условиях хронического радиационного воздействия. При пересаживании рыб из «грязного» водоема В-4 в садки «чистого» водоема регистрировалось статистически значимое увеличение количества кроветворных клеток до 2010 ± 90 клеток в поле зрения, что превышало реакцию на факторы, связанные с содержанием рыб в садке у рыб из «чистого» водоема. Наоборот, при содержании этих рыб в садке, установленном в «грязном» водоеме, было зарегистрировано снижение количества кроветворных клеток до 1240 ± 90 в поле зрения, что, вероятно, отражало реакцию гемопоэза на воздействие комплекса нерадиационных факторов на фоне радиационного воздействия на рыб.

Анализ исследуемых показателей позволяет предположить, что влияние нерадиационных факторов, связанных с содержанием рыб в садке, приводит к стрессовой реакции для рыб и реализуется в повышении пролиферации и, соответственно, количества кроветворных клеток в головной части почек у рыб. Хроническое радиационное воздействие на рыб с мощностью дозы 19 мГр/сут. приводит к радиационно-индуцированной гибели кроветворных клеток и адаптивному повышению их пролиферации, что обеспечивает состояние гемопоэза на уровне физиологической нормы. Радиационное воздействие на рыб снижает адапционные возможности гемопоэза на действие нерадиационных неблагоприятных факторов.

1. Глаголенко Ю.В., Дрожко Е.Г., Мокров Ю.Г. Особенности формирования радиоактивного загрязнения р. Теча // *Вопр. радиац. Безопасности*, 2007. № 2 . С. 27-36.
2. Аклеев А.В., Дегтева М.О., Крестинина Л.Ю. Сравнительный анализ медико-биологических последствий аварии 1957 г. и загрязнения реки Течи в контексте эффективности защитных мероприятий // *Радиационная гигиена*, 2020. Т.13. №1. 16-26 с.
3. Тряпицына Г.А., С.С. Андреев, Д.И. Осипов, П.М. Стукалов, И.А. Иванов, О.Н. Александрова, А.В. Костюченко, Е.А. Пряхин, А.В. Аклеев Оценка уровня радиационного воздействия на гидробионтов некоторых специальных промышленных водоёмов ПО «МАЯК» // *Радиационная биология. Радиоэкология*, 2012, том 52, № 2, с. 207–214

ХИМИЧЕСКИЕ ТРАНСФОРМАЦИИ 5-АНДРОСТЕНДИОЛА КАК ПУТЬ СОЗДАНИЯ СРЕДСТВ ПРОТИВОЛУЧЕВОЙ ЗАЩИТЫ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

*М.Е. Успенская¹, М.Н. Соколов², В.В. Рожков², А.Н. Усенко¹, Т.А. Федотчева¹,
Н.Л. Шимановский¹, В.М. Ржезников¹*

¹ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия

²Институт трансляционной медицины и биотехнологии, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия
e-mail: m.uspenskaja@mail.ru

Резюме. С целью создания принципиально новых средств радиационной защиты были синтезированы производные стероидного гормона 5-андростендиола. Химический синтез осуществлялся по двум направлениям: трансформация стероида по гидроксильным группам и создание его конъюгатов с известными радиопротекторами. Для первой группы соединений была проведена оценка их биологической активности.

Ключевые слова: 5-андростендиол, 5-AED, радиопротектор, радиомитигатор, конъюгаты.

CHEMICAL TRANSFORMATIONS OF 5-ANDROSTENDIOL AS A WAY TO CREATE A NEW GENERATION OF RADIOPROTECTORS

*М.Е. Успенская¹, М.Н. Соколов², В.В. Рожков², А.Н. Усенко¹, Т.А. Федотчева¹,
Н.Л. Шимановский¹, В.М. Ржезников¹*

¹Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

²Institute for Translation Medicine and Biotechnology, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia
e-mail: m.uspenskaja@mail.ru

Summary. To create a new generation of radioprotective means the chemical derivatives of steroid hormone 5-androstendiol were synthesized. The synthesis was carried out in two main directions: modification of hydroxygroups of the steroid and the creation of steroid conjugates with known radioprotectors. For the first group of compounds, their biological activity was evaluated.

Key words: 5-androstendiol, 5-AED, radioprotector, radiomitigator, conjugate.

Поиск эффективных противорадиационных средств с оптимальным механизмом действия и с минимальными побочными эффектами становится все более актуальным в связи с обострением геополитической ситуации, а также бурным развитием предприятий, работающих с источниками ионизирующего излучения. Среди перспективных кандидатов для создания фармакологических средств защиты от ионизирующей радиации особое место занимает стероидный гормон 5-андростендиол (5-AED). В экспериментах на разных видах лабораторных животных, включая обезьян, 5-AED продемонстрировал выраженную радиозащитную эффективность в условиях острого и пролонгированного облучения, а также при комбинированном воздействии факторов радиационной, химической и биологической природы [1,2]. Препарат проявляет противолучевые свойства при его введении как до (за 48–24 ч) облучения, так и в ранние (через 1–4 ч) сроки после радиационного воздействия, хорошо переносим, побочные эффекты минимальны, его лекарственная форма успешно прошла первую стадию клинических испытаний на людях [2].

5-AED предотвращает вызванное облучением угнетение кроветворения за счет повышения выживаемости клеток-предшественников костного мозга, что ведет к увеличению циркулирующих нейтрофилов и тромбоцитов в крови. В основе его радиозащитного действия лежит стимуляция синтеза гранулоцитарного колониестимулирующего фактора G-CSF и других цитокинов (GM-CSF, интерлейкины 3, 6, 10 и 12, тромбопоэтин и ряд других) через активацию сигнального пути транскрипционного фактора NF- κ B, а также угнетение пироптоза и апоптоза, восстановление вызванных облучением нарушений ДНК и повышение экспрессии генов индуцибельной NO-синтазы [3]. Отечественные специалисты в области радиолучевой терапии рассматривают 5-AED в качестве одного из наиболее перспективных радиомитигаторов [4].

Цель работы заключалась в химической трансформации 5-AED для усиления его радиопротекторного действия и улучшения ряда фармакокинетических параметров и создания, таким образом, нового поколения средств противолучевой терапии. Трансформации осуществлялись по двум направлениям. По главному направлению были синтезированы конъюгаты – гибридные молекулы, объединяющие структуру стероида с фрагментами уже известных радиопротекторов. В числе таковых рассматривались как серосодержащие препараты: амифостин, цистамин, так и радиопротекторы, в структуру которых входит индол: индралин, мексамин. Идея создания конъюгатов уже была успешно реализована прежде в синтезе противоопухолевых антиэстрогено-цитостатиков [5]. По второму направлению были проведены трансформации 3, 17-гидроксильных групп стероида с целью повышения биодоступности, в том числе за счет увеличения растворимости.

Исследование биологических свойств синтезированных соединений находится на начальном этапе скрининга *in vitro* и *in silico*. *In vitro* используются клеточные культуры человека, содержащие рецепторы андрогенов и эстрогенов – нормальные и опухолевые, а также иммунные клетки: мононуклеарная фракция периферической крови человека. В ряду 3,17-производных 5-AED соединения RVVS_0002 и SMN_028 показали превосходство в способности подавлять рост опухолевых клеток и стимулировать пролиферацию фибробластов. *In silico* ведется поиск молекулярных мишеней действия новых соединений. В дальнейшем планируется изучение радиопротекторного действия отобранного соединения или соединений, учитывая широту диапазона их применения (вооруженный конфликт, защита персонала, обслуживающего источники облучения, а также поддержка при лучевой терапии онкобольных).

Работа поддержана грантом РФФ № 24-24-00280.

1. Whitnall M. H. и др. Molecular specificity of 5-androstenediol as a systemic radioprotectant in mice // *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 2005. V. 27. № 1. P. 15–32.
2. Stickney D. R. и др. Preliminary clinical findings on NEUMUNE as a potential treatment for acute radiation syndrome // *J. Radiol. Prot.* 2010. T. 30 № 4. С. 687–698.
3. Успенская М. Е. и др. Перспективы 5-андростендиола и его синтетических производных в качестве новых средств радиационной защиты // *Хим-фарм. журнал.* 2023. Т. 57 № 12, С. 3-12.
4. Легеза В. И., Гребенюк А. Н., Драчев И. С. Радиомитигаторы: классификация, фармакологические свойства, перспективы применения // *Радиационная биология и радиационная экология.* 2019. Т. 59. №2. С. 161-169.
5. Ржезников В. М. и др. Противоопухолевые стероиды. 1. Синтез и биологическая активность производных 11 α -гидроксистероидов-1,3,5(10)-триенов с бис-(2-хлорэтил)аминосодержащим заместителем в положении 3 // *Хим-фарм. журнал.*, 2007. Т. 41. №4. С. 8-11.

ВОЗМОЖНОСТИ РАДИОСЕНСИБИЛИЗАЦИИ ОПУХОЛЕЙ НАНОЧАСТИЦАМИ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ПРИМЕРЕ НАНОЧАСТИЦ ВИСМУТА

*М.В. Филимонова^{1,6}, А.А. Шитова¹, О.В. Солдатова¹, А.С. Филимонов¹, В.А. Рыбачук¹,
А.О. Косаченко¹, К.А. Николаев¹, Г.А. Демьяшкин¹, А.А. Попов², И.В. Зелепукин³,
А.В. Кабашин⁴, С.М. Деев³, И.Н. Завестовская⁵, С.Н. Корякин^{1,6}*

¹Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба (МРНЦ им. А.Ф. Цыба) – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии»

Министерства здравоохранения Российской Федерации, Обнинск, Россия

²Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Москва, Россия

³Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и

Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, Россия

⁴Экс-Марсель Университет, Марсель, Франция

⁵Физический институт имени П.Н. Лебедева Российской академии наук, Москва, Россия

⁶Обнинский институт атомной энергетики – филиал Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Обнинск, Россия
e-mail: mari_fil@mail.ru

Резюме. Исследована противоопухолевая активность сочетанного применения двух типов наночастиц висмута и локального облучения протонами в двух режимах облучения (10 и 31 Гр). Наночастицы висмута, покрытые амфифильной молекулой Pluronic-F127 и наночастицы, покрытые полимером Silane-PEG(5кДа)-COOH вводили превентивно внутриопухолево в дозах 0,75 и 1,5 мг/мышь в двух независимых исследованиях на модели солидной карциномы Эрлиха. Установлено, что наночастицы висмута обеих модификаций при прямом внутриопухолевом введении усиливают противоопухолевые эффекты протонной терапии. Причем, выраженность радиосенсибилизирующего эффекта наночастиц висмута возрастала с увеличением дозы наночастиц и дозы лучевого воздействия. Полученные данные позволят расширить возможности терапии злокачественных новообразований.

Ключевые слова: радиосенсибилизаторы, наночастицы, протонное облучение, противоопухолевая эффективность

POSSIBILITIES OF TUMOR RADIOSENSITIZATION BY HEAVY METALS NANOPARTICLES USING THE EXAMPLE OF BISMUTH NANOPARTICLES

*M.V. Filimonova^{1,6}, A.A. Shitova¹, O.V. Soldatova¹, A.S. Filimonov¹, V.A. Rybachuk¹,
A.O. Kosachenko¹, K.A. Nikolaev¹, G.A. Demyashkin¹, A.A. Popov², I.V. Zelepukin³,
A.V. Kabashin⁴, S.M. Deev³, I.N. Zavestovskaya⁵, S.N. Koryakin^{1,6}*

¹A. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation (A. Tsyb MRRC), Obninsk, Russia

²National Research Nuclear University "MEPhI", Moscow, Russia

³Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

⁴Aix-Marseille University, Marseille, France

⁵Lebedev Physical Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

⁶Obninsk Institute of Nuclear Energy - branch of the Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "National Research Nuclear University "MEPhI", Obninsk, Russia

e-mail: mari_fil@mail.ru

Summary. The antitumor activity of the combined use of two types of bismuth nanoparticles and local irradiation with protons in two irradiation modes (10 and 31 Gy) was studied. Bismuth nanoparticles coated with the amphiphilic molecule Pluronic-F127 and

nanoparticles coated with the polymer Silane-PEG(5kDa)-COOH were administered preemptively intratumorally at doses of 0.75 and 1.5 mg/mouse in two independent studies in a model of Ehrlich solid carcinoma. It has been established that bismuth nanoparticles of both modifications, when administered directly intratumorally, enhance the antitumor effects of proton therapy. Moreover, the severity of the radiosensitizing effect of bismuth nanoparticles increased with increasing dose of nanoparticles and dose of radiation exposure. The data obtained will expand the possibilities of treating malignant neoplasms.

Key words: radiosensitizers, bismuth nanoparticles, proton radiation sensitisation, anti-tumor activity.

Одним из путей повышения эффективности протонного облучения новообразований является применение радиосенсибилизаторов. В ряде исследований показана перспективность использования малоразмерных структур, в частности наночастиц (НЧ) различных металлов, для радиосенсибилизации лучевой терапии. Высокий коэффициент поглощения металлических атомов увеличивает вероятность фотоэлектрических взаимодействий, что приводит к сенсбилизации опухолевых клеток, повышению выхода активных форм кислорода (АФК) и другим биологическим эффектам. Наночастицы висмута (НЧ Bi) обладают подходящими физическими и химическими свойствами, что потенциально способно усиливать радиационное воздействие путем сенсбилизации биологических мишеней.

Цель исследования: оценка противоопухолевой эффективности протонной терапии в сочетании с внутриопухолевым введением наночастиц висмута на модели солидной карциномы Эрлиха.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные, опухолевая модель. Исследование выполнено на 113 самках мышей F1(CBA×C57BL6j) в возрасте 2-2.5 месяца, с массой тела 19-29 г. Штамм солидной карциномы Эрлиха (СКЭ) был получен из банка опухолевых материалов РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Суспензию опухолевых клеток вводили мышам подкожно в область правого бедра.

Исследуемые наноматериалы. НЧ Bi получены и характеризованы в лаборатории бионанотехники НИЯУ МИФИ, функционализированы в лаборатории молекулярной иммунологии ИБХ РАН. Используются два типа НЧ Bi, различающихся покрытием поверхности – НЧ, покрытые амфифильной молекулой Pluronic-F127 и НЧ, покрытые полимером Silane-PEG(5kDa)-COOH. Размеры НЧ: для НЧ Bi-Pluronic – 102 ± 37 нм в воде и 124 ± 42 нм в фосфатно-солевом буфере, для НЧ Bi-PEG-COOH – 88 ± 32 нм в воде и 95 ± 23 нм в фосфатно-солевом буфере. Непегелированные (НЧ Bi-Pluronic в дозах 0,75 и 1,5 мг/мышь) и пегелированные (НЧ Bi-PEG-COOH в дозе 1,5 мг/мышь) НЧ Bi вводили животным в объёме 0,1 мл однократно путём прямой внутриопухолевой инъекции за 15 минут до облучения.

Облучение. В качестве источника сканирующего пучка протонов использовали комплекс протонной терапии (КПТ) «Прометеус», расположенный в Медицинском радиологическом научном центре им. А.Ф. Цыба (г. Обнинск). На 9 сутки роста СКЭ проводили однократное локальное воздействие протонами на область латеральной поверхности правого бедра мышей с перевитой СКЭ в дозах 10 либо 31 Гр.

Схемы экспериментов и воздействий. Проведены 2 серии независимых исследований. I серия, группы: контроль роста СКЭ, контроль облучения 10 Гр, непегелированные НЧ Bi (Bi-Pluronic, 0,75 мг/мышь) + облучение 10 Гр, непегелированные НЧ Bi (Bi-Pluronic, 1,5 мг/мышь) + 10 Гр. II серия, группы: контроль роста СКЭ, контроль облучения 31 Гр, пегелированные НЧ Bi (Bi-PEG-COOH, 1,5 мг/мышь) + 31 Гр. Оценивали объём опухолевых узлов (мм³) и индекс торможения роста опухоли (ТРО, %).

Гистологический анализ. После стандартной гистологической обработки фрагменты опухолей заключали в парафиновую среду «Гистомикс» (BioVitrum, Россия). Для морфологических исследований срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином (BioVitrum, Россия). Микрофотосъемку осуществляли с помощью цифровой камеры Canon Power Shot A640 (Япония) при 2-х уровнях увеличений объективов: $\times 5$, $\times 10$.

Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи пакетов прикладных программ "Microsoft Excel", STATISTICA 10, Origin 2017.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

НЧ Bi-Pluronic переносились лабораторными животными удовлетворительно, явлений интоксикации и летальных эффектов не отмечалось. Однократное локальное воздействие протонами в дозе 10 Гр на бедро мышей с привитой СКЭ вызвало статистически значимое противоопухолевое действие (ТРО – 20-25%). Предварительное однократное в/о введение НЧ Bi-Pluronic в дозе 0,75 мг не сопровождалось значимой модификацией противоопухолевых эффектов протонного излучения. Увеличение дозы НЧ Bi-Pluronic до 1,5 мг сопровождалось умеренным, но статистически значимым ($p = 0,02-0,04$) возрастанием противоопухолевых эффектов протонов. ТРО нарастало в первые 7 суток и далее сохранялось на стабильном уровне 25-30%. Наличие радиосенсибилизирующего эффекта НЧ Bi-Pluronic подтверждали и данные сравнительных гистологических исследований.

При высокой дозе протонного воздействия (31 Гр) радиомодифицирующие эффекты НЧ Bi-PEG-COOH были качественно более выражены, чем в первой серии исследований. При этом уровень статистической значимости проявления радиосенсибилизирующего действия НЧ Bi-PEG-COOH на всех этапах наблюдения был очень убедительным – $p < 0,001$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют, что внутриопухолевое введение наночастиц висмута может являться перспективным радиосенсибилизирующим фактором, способным расширить возможности протонной терапии злокачественных новообразований.

**ПРИЖИЗНЕННАЯ ОЦЕНКА НАКОПЛЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА
В ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ МЕТОДОМ КОМПЬЮТЕРНОЙ ТОМОГРАФИИ
НА ЭТАПЕ ПЛАНИРОВАНИЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ
ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ**

Ю.А. Финогенова, В.А. Скрибицкий, К.Е. Шпакова, А.А. Липенгольц
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России
e-mail: b-f.finogenova@yandex.ru

Резюме. Методом КТ на мышцах с аденокарциномой Ca755 показано, что наночастицы золота с покрытием полиэтиленгликолем (ПЭГ) накапливаются в подкожной опухоли очень медленно, поэтому временной интервал от внутривенной инъекции наночастиц до начала терапевтического облучения должен составлять не менее 24 ч.

Ключевые слова: компьютерная томография, лучевая терапия, лабораторные животные, аденокарцинома Ca755, экспериментальная онкология

**IN VIVO QUANTIFYING THE ACCUMULATION OF GOLD
NANOPARTICLES IN TUMOR TISSUE BY COMPUTED TOMOGRAPHY IN
PLANNING THERAPEUTIC IRRADIATION OF LABORATORY ANIMALS**

Yu.A. Finogenova, V.A. Skribitsky, K.E. Shpakova, A.A. Lipengolts
N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology
e-mail: b-f.finogenova@yandex.ru

Summary. CT method revealed that polyethylene glycol (PEG)-coated gold nanoparticles accumulated very slowly in subcutaneous Ca755 adenocarcinoma, so the time interval from intravenous injection of nanoparticles to the start of therapeutic irradiation should be at least 24 h.

Key words: computed tomography, radiation therapy, laboratory animals, Ca755 adenocarcinoma, experimental oncology

Несмотря на убедительные данные о способности наночастиц повышать эффективность терапевтического облучения подкожных опухолей мелких лабораторных животных, до сих пор не разработан единый протокол, определяющий необходимый временной интервал от инъекции до начала облучения. В научной литературе приводятся различные подходы: например, J.F. Hainfeld и соавт. облучали мышей с подкожной опухолью через 2 мин после внутривенной инъекции наночастиц [1], G. Liang и соавт. начинали облучение мышей с аденокарциномой 4T1 через 4 ч после инъекции [2], а другие авторы начинали облучение лишь через 24 ч после инъекции [3]. При этом кажется очевидным, что оптимальным временем начала облучения является момент наибольшего содержания золота в опухолевой ткани. Метод компьютерной томографии (КТ) позволяет прижизненно получить количественную информацию о гетерогенном распределении золота в важнейших компонентах структуры опухоли: в стромальном компоненте, в паренхиме опухоли и в кровеносных сосудах. При этом каждое животное можно сканировать многократно, получая информацию об изменении концентрации золота в указанных тканях в динамике. Для планирования терапевтического облучения динамика накопления наночастиц золота в опухоли должна исследоваться отдельно для каждого препарата и для каждой опухолевой линии.

Целью данной работы было количественное определение временных характеристик динамики накопления трех препаратов наночастиц золота в подкожной модельной аденокарциноме Ca755.

Материалы и методы. На основе лазерно-аблированных наночастиц золота размером 8 нм были изготовлены три биосовместимых препарата: 1) с покрытием полиэтиленгликолем (ПЭГ), 2) с покрытием бычьим сывороточным альбумином (БСА), 3)

стабилизированные БСА, но без ковалентного покрытия. Препараты вводили внутривенно мышам-самкам линии C67B16 (n=3 в каждой группе) массой 20-22 г с подкожной аденокарциномой Ca755. КТ-сканирование проводили мышам до инъекции, а затем через 5 мин после инъекции, через 30 мин, 2 ч и 24 ч. На полученных томограммах определяли повышение рентгеноплотности содержимого камер сердца для оценки концентрации золота в крови, а также повышение рентгеноплотности опухолевой ткани относительно нативного изображения отдельно для паренхиматозного и стромального компонентов.

Результаты. Наночастицы золота, покрытые БСА, и наночастицы золота без ковалентного покрытия по данным КТ имели недостаточно длительное время циркуляции в кровотоке (не более 2 ч), поэтому накапливались в опухолевой ткани в низкой концентрации, не достигающей предела обнаружения методом КТ. Данная концентрация была признана недостаточной для проведения терапевтического облучения. Лишь препарат наночастиц с покрытием ПЭГ продемонстрировал длительную циркуляцию в кровотоке мышей с постепенным накоплением золота в опухолевой ткани аденокарциномы Ca755, незначительным через 2 ч (0,6 мг/мл) и выраженным через 24 ч после инъекции (2,9 мг/мл). Таким образом, показано, что оптимальный интервал от внутривенной инъекции наночастиц золота с покрытием ПЭГ до начала терапевтического облучения составляет не менее 24 ч, а радиосенсибилизирующий эффект при облучении через 1-30 мин после инъекции объясняется практически исключительно повреждением питающих опухоль кровеносных сосудов, а не опухолевых клеток.

1. Hainfeld J. F., Slatkin D. N., Smilowitz H. M. The use of gold nanoparticles to enhance radiotherapy in mice //Physics in Medicine & Biology. – 2004. – Т. 49. – №. 18. – С. N309-N315.
2. Liang G. et al. RGD peptide-modified fluorescent gold nanoclusters as highly efficient tumor-targeted radiotherapy sensitizers //Biomaterials. – 2017. – Т. 144. – С. 95-104.
3. Popovtzer A. et al. Actively targeted gold nanoparticles as novel radiosensitizer agents: an in vivo head and neck cancer model //Nanoscale. – 2016. – Т. 8. – №. 5. – С. 2678-2685.

**ВЛИЯНИЕ ФРАКЦИОНИРОВАННОГО ОБЛУЧЕНИЯ В МАЛОЙ ДОЗЕ
НА АКТИВНОСТЬ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
В НОРМАЛЬНЫХ И ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ КЛЕТКАХ**

Д.В. Фомина¹, С.А. Абдуллаев^{1,2}, Н.Ф. Раева¹, Г.Д. Засухина^{1,3}

¹ФГБУ ГНЦ Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна
ФМБА России, Москва, Россия,

² Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, Россия,

³Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия,
e-mail: dasha_saleeva@inbox.ru

Резюме. В клетках, подвергающихся воздействию ионизирующего излучения, активируется ряд сложных реакций, включающих повреждение и репарацию ДНК, гибель клеток, изменение уровня пролиферации. Эффекты действия высоких доз радиации на клетки млекопитающих изучались, в том числе, в аспекте активности генов и их регуляторов. Однако, остается менее исследованным, как малые дозы ионизирующего излучения влияют на указанные процессы.

Ключевые слова: малые дозы радиации, гены, некодирующие РНК, опухоли

**INFLUENCE OF FRACTIONED LOW DOSE RADIATION ON THE ACTIVITY OF
MOLECULAR GENETIC PARAMETERS IN NORMAL AND MALIGNANT CELLS**

D. V. Fomina¹, S. A. Abdullaev^{1,2}, N. F. Raeva¹, G. D. Zasukhina^{1,3}

¹ State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical
Biological Agency, Moscow, Russia,

² Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of the Russian Academy of Sciences,
Pushchino, Russia,

³ Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
e-mail: dasha_saleeva@inbox.ru

Summary. In cells exposed to ionizing radiation, a number of complex reactions are activated, including DNA damage and repair, cell death, and changes in the level of proliferation. The effects of high doses of radiation on mammalian cells have been studied, including in terms of the activity of genes and their regulators. However, it remains less investigated how low doses of ionizing radiation affect these processes

Key words: low doses of radiation, genes, non-coding RNA, cancer

Биологические реакции на высокие и малые дозы радиации (МДР) качественно различны, что обуславливает необходимость непосредственного изучения ответа на МДР для лучшего понимания потенциальных рисков развития онкологических процессов [1].

Данный вопрос остается социально значимым и охватывает различные проблемы, включая скрининговые тесты на рак, будущее ядерной энергетики, профессиональное радиационное облучение, пилотируемую космонавтику и задачи, связанные с радиологическими проблемами [2].

В то же время эффекты малых доз, такие как адаптивная реакция и эффект свидетеля, получают все большее признание, а это означает, что прямая линейная экстраполяция эффектов при высоких дозах может быть неподходящей при воздействии малых доз. Воздействие МДР может вызвать адаптивную реакцию, которая ослабляет эффекты воздействия последующей высокой дозы, что выражается в снижении частоты мутаций, замедлении роста опухоли и защите от цитогенетического повреждения [3]. Однако, остается неясным, какие генетические структуры являются ведущими и могут служить как прогностическими маркерами патологического процесса, так и мишенями для специфической терапии.

Цель работы: исследовать активность генов и некодирующих РНК (длинных некодирующих РНК и микроРНК) на клеточных линиях человека и в клетках различных органов мышей с трансплантированной карциномой Льюиса при облучении в МДР.

Материалы и методы: Объектом исследования являлись лимфоциты человека и клетки линии Jurkat (Т-лимфобластный лейкоз), которые облучали на рентгеновской установке РУБ РУСТ-М1 в дозе 0,1 или 5 Гр при мощности дозы 0,2 Гр/мин (200 кВ, 1.2 мА, 1.5 мм Al). Через 4 ч после облучения в дозе 0,1 Гр часть клеток повторно облучали в дозе 5 Гр. Были изучены различные по дозе облучения экспериментальные группы клеток (нормальные лимфоциты и лимфобластные клетки линии Jurkat): 0 Гр (контроль), 0,1 и 5 Гр, а также последовательно (0,1 Гр + 5.0 Гр). Дозы облучения 0,1 и 5 Гр были выбраны как наиболее эффективные для формирования адаптивного ответа. Через 20 ч после облучения в дозе 5 Гр определяли жизнеспособность клеток и профили экспрессии генов и некодирующих РНК. Кроме того, исследовали влияние МДР на 24 мышцах-самках линии C57Bl/6, которым подкожно трансплантировали клетки карциномы Льюиса, а затем на 6, 10, 14, 18-е сутки после трансплантации облучали в дозе 0,075 Гр. Эвтаназию мышей путем декапитации осуществляли на 19-е сутки. После облучения в костном мозге, селезенке, тимусе и опухоли определяли экспрессию генов и некодирующих РНК методом ПЦР-РВ, которые по своим функциональным особенностям были разделены на онкосупрессоры (*P53*, *PTEEN*, *P38*, *PINT*, *DINO*, *Incp21*) и онкогены (*NFkB* (*p50*), *NFkB* (*p65*), *IAP-1*, *IAP-2*, *G-CSF*, *TNFa*, *IkBa*, *iNOS*, *Cyclin E2*, *CTCF*, *TAL1*, *NEAT1*, *MALAT1*, *miR-21*). Результаты представленных в виде медианы изменения экспрессии показателей в группах облученных мышей, выраженных по отношению к медиане группы контроля, принятой за единицу. Для оценки статистической значимости применялся непараметрический критерий Манна-Уитни ($p < 0.05$).

Результаты оценки выживаемости лимфоцитов и клеток линии Jurkat показали, что через 20 ч после облучения клеток Jurkat в дозе 5 Гр наблюдается статистически значимое снижение их выживаемости. Предварительное воздействие радиации в малой дозе не приводило к увеличению радиорезистентности этих лимфобластных клеток, что выявлялось по отсутствию различий в выживаемости клеток между группой с комбинированным облучением в дозах 0,1 Гр и через 4 ч воздействием на них 5 Гр и группой, получившей однократное действие радиации 5 Гр.

Для лимфоцитов периферической крови наблюдали значимые различия выживаемости через 20 ч после облучения в дозе 5 Гр по сравнению с группой, которая включала предварительное облучение в малой дозе 0,1 Гр и последующее воздействие в дозе 5 Гр. Таким образом, в проведенном эксперименте наблюдали формирование адаптивного ответа в лимфоцитах здоровых доноров, и его отсутствие в клетках линии Jurkat.

Оценка влияния эффекта МДР на рост перевивной опухоли у мышей показала, что рост опухоли наблюдался в обеих группах животных, однако в группе с облучением в малой дозе рост опухоли был в 1,25 раза ниже по сравнению с аналогичной группой без облучения. Профиль изученных генов и некодирующих РНК показал, что в группе «опухоль» отмечается преобладание активации онкогенов во всех исследуемых органах мышей (64%, 57% и 57%, соответственно в костном мозге, селезенке и тимусе). Иная ситуация отмечается в группе «Опухоль+облучение», где количество инактивированных онкогенов превышало количество активированных в процентном соотношении (71/50 в костном мозге, 64/36 в селезенке, 64/36 в тимусе и 57/36 в опухоли). Кроме того, активировалась экспрессия онкосупрессоров в костном мозге (33%), тимусе (83%) и селезенке (67%). В опухолевой ткани отмечается активация всех исследуемых онкосупрессоров (100%) при воздействии ионизирующего излучения. Из полученных данных следует, что наиболее чувствительными к действию МДР органами мышей с инокулированной опухолью по активации онкосупрессоров является тимус (83%), а по ингибированию онкогенов – костный мозг (71%). Таким образом, если в группе

«Опухоль» активировались преимущественно онкогены, то в группе мышей «Опухоль+облучение» преобладало подавление активности онкогенов и активация экспрессии онкосупрессоров в тимусе и опухоли.

Выводы. Таким образом, показано, что эффекты действия МДР приводили к защите нормальных клеток, что отражалось в увеличении экспрессии онкосупрессоров и снижению активности онкогенов. При этом не отмечалось аналогичных эффектов в злокачественных клетках (линии Jurkat человека и саркоме Льюиса у мышей).

1. Katsura, M., Urade, Y., Nansai, H. et al. Low-dose radiation induces unstable gene expression in developing human iPSC-derived retinal ganglion organoids. *Sci Rep* 13, 12888 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40051-6>
2. Mark P.L., Tamara V.A., David B.R., et al. Ionising radiation and cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2023;380: e072924.
3. Shen C.J., Sharma A., Vuong D.V., et al. Ionizing radiation induces tumor cell lysyl oxidase secretion. *BMC Cancer*. 2014;14:532. doi: 10.1186/1471-2407-14-532.

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА СИНТЕЗА ДНК АРАБИНОЗИД ЦИТОЗИНА НА ФОРМИРОВАНИЕ РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫХ ДР ДНК В НОРМАЛЬНЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ

*Т.С. Храдко^{1,2}, М.Е. Крупнова¹, Н.В. Пахомова^{1,2}, Д.Д. Шамина^{1,2},
А.В. Ясинская², А.В. Борейко^{1,2}*

¹Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия

²Государственный университет «Дубна», Дубна, Россия

e-mail: bulanova_tatyan@mail.ru

Резюме. Методом иммуноокрашивания проанализирована кинетика репарации двунитевых разрывов (ДР) ДНК в культурах фибробластов кожи человека и глиобластомы (U87) при комбинированном действии ионизирующих излучений и ингибитора репарации арабинозид цитозина (АраЦ). Показано, что сочетанное применение протонов и АраЦ приводит к 6-и и 3-х кратному увеличению количества радиационно-индуцированных \square H2AX/53BP1 фокусов в ядрах фибробластов и U87, соответственно, что также отражается на выживаемости U87.

Ключевые слова: ДР ДНК, репарация двунитевых разрывов ДНК, АраЦ, ингибитор, радиационно-индуцированные фокусы.

INFLUENCE OF THE DNA SYNTHESIS INHIBITOR CYTOSINE ARABINOSIDE ON RADIATION-INDUCED DNA DOUBLE-STRAND BREAKS FORMATION IN NORMAL AND TUMOR CELLS

*T.S. Hramco^{1,2}, M.E. Krupnova¹, N.V. Pahomova^{1,2}, D.D. Shamina^{1,2},
A.V. Yasinskaya², A.V. Boreyko^{1,2}*

¹Joint Institute for Nuclear research, Dubna, Russia

²Dubna State University, Dubna, Russia

e-mail: bulanova_tatyan@mail.ru

Summary. Using the immunostaining procedure, the DNA double-strand breaks kinetics was analyzed in human skin fibroblasts and glioblastoma cell cultures under the combined action of ionizing radiation and the DNA repair inhibitor – cytosine arabinoside (AraC). It was shown that the combined application of proton-irradiation and AraC leads to 6- and 3- fold increase of the radiation-induced \square H2AX/53BP1 foci number in fibroblasts and U87 cells nuclei correspondingly, which also affected the survival of U87 cells.

Key words: DNA DSB, DNA DSB repair, AraC, inhibitor, radiation-induced foci.

Цитозин арабинозид (АраЦ) – одно из радиосенсибилизирующих соединений, известное своим действием на ДНК-полимеразы репликативного и репаративного синтеза, широко применяемое для лечения лейкозов. Механизм действия АраЦ заключается в блокировке инициации и удлинения реплицирующейся цепи ДНК, что препятствует полноценному восстановлению поврежденных ДНК и дальнейшему продвижению клеток по циклу. Использование этого соединения в сочетании с облучением усиливает эффект воздействия за счет образования дополнительных ферментативных двунитевых разрывов ДНК (ДР ДНК), генерируемых в результате блокировки репарации радиационно-индуцированных поврежденных оснований и одноститевых разрывов (ОР) ДНК. Модифицирующий эффект АраЦ проявляется в большей степени при действии излучений с низкими линейными передачами энергии ЛПЭ, при воздействии которых формируется большое количество поврежденных оснований и ОР ДНК. В то время как при облучении заряженными частицами с ростом ЛПЭ излучений преимущественно образуются прямые ДР ДНК, а вклад энзиматических ДР ДНК снижается, т.к. уменьшается количество повреждений, служащих субстратом для модификации в условиях влияния АраЦ. Для

оценки влияния АраЦ на формирование и репарацию двунитевых разрывов ДНК использовался метод иммуноцитохимического окрашивания репарационных белков-маркеров фосфорилированного гистона H2AX (γ -H2AX) и 53BP1.

Методом иммуноцитохимического окрашивания установлено, что при облучении протонами в обычных условиях среднее количество γ -H2AX/53BP1 фокусов на клетку снижается с течением времени после облучения как в нормальных, так и в опухолевых клетках. Однако, при комбинированном действии протонов и АраЦ элиминация фокусов с течением времени не наблюдается и количество фокусов остается на максимальном уровне вплоть до 24ч. Показано, что через 24ч количество фокусов при облучении протонами в присутствии АраЦ выше в 6 раз в ядрах фибробластов и в 3 раза в ядрах клеток U87 по сравнению с облученным контролем. Также облучение протонами в присутствии АраЦ продемонстрировало радиосенсибилизирующий эффект на выживаемость клеток U87 – на уровне 10% выживаемости клеток фактор изменения дозы составил 1,75.

При облучении ускоренными ионами азота ^{15}N ингибитор АраЦ незначительно влияет на кинетику элиминации γ -H2AX/53BP1 фокусов в обоих типах клеточных культур. Элиминация γ -H2AX/53BP1 фокусов успешно осуществляется в пределах исследованного пострадиационного периода. Наблюдаемые различия в кинетике репарации ДР ДНК в присутствии ингибитора свидетельствуют о том, что при действии протонов (150 МэВ, 10 кэВ/мкм) и ионов ^{15}N (14 МэВ/нуклон, 180 кэВ/мкм) индуцируются различные виды повреждений ДНК. При действии ионов ^{15}N за счет большего вклада коровой части трека в передачу энергии веществу наиболее вероятно образование прямых ДР ДНК. При действии протонов большая часть повреждений ДНК представлена более простыми одностранными разрывами ДНК и модифицированными основаниями, подверженными действию ингибитора, что приводит к формированию энзиматических ДР ДНК и суммарно большему количеству ДР ДНК сложных для восстановления.

ОЦЕНКА СТЕПЕНИ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ *GNAS*, *RABL6*, *RHOD* ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ РАДИАЦИОННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

О.С. Цымбал¹, Т.В. Вишневецкая¹, М.Ю. Цыпенкова¹, Д.С. Исубакова¹,
Н.В. Литвяков^{1,2}, И.В. Мильто^{1,3}, Р.М. Тахауов^{1,3}

¹Северский биофизический научный центр

Федерального медико-биологического агентства, Северск, Томская обл., Россия

²Томский национальный исследовательский медицинский центр

Российской академии наук, Томск, Россия

³Сибирский государственный медицинский университет

Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск, Россия

e-mail: olga-tsymbal@mail.ru, mail@sbrc.seversk.ru

Резюме. Проведена оценка степени метилирования *GNAS*, *RABL6*, *RHOD* в лимфоцитах крови персонала, подвергавшегося хроническому облучению γ -излучением в дозах 10-700 мЗв. Показано отсутствие разницы по степени метилирования трёх генов между группой контроля и группой исследования (хроническое облучение). У женщин в группе исследования выявлены рост степени метилирования *RHOD* при дозе 20-160 мЗв и положительная корреляция степени метилирования этого гена с дозой внешнего облучения.

Ключевые слова: метилирование генов, *GNAS*, *RABL6*, *RHOD*, хроническое облучение, γ -излучение, лимфоциты крови человека.

ASSESSMENT OF THE DEGREE OF METHYLATION OF THE *GNAS*, *RABL6*, *RHOD* GENES UNDER CHRONIC RADIATION EXPOSURE

О.С. Tsymbal¹, T.V. Vishnevskaya¹, M.Yu. Tsypenkova¹, D.S. Isubakova¹,
N.V. Litviakov^{1,2}, I.V. Milto^{1,3}, R.M. Takhauov^{1,3}

¹Seversk Biophysical Research Center of the Federal Medical-Biological Agency,
Seversk, Tomsk region, Russia

²Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences,
Tomsk, Russia

³Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

e-mail: olga-tsymbal@mail.ru, mail@sbrc.seversk.ru

Summary. The degree of genes methylation in blood lymphocytes of personnel exposed to chronic gamma radiation at doses 10-700 mSv was assessed. There was no difference in the degree of methylation of *GNAS*, *RABL6*, *RHOD* between the control and the research groups (chronic irradiation). In the research group, only in women, showed an increase in the degree of methylation of *RHOD* at a dose of 20-160 mSv, positive correlation between the degree of methylation of this gene and the dose radiation.

Key words: gene methylation, *GNAS*, *RABL6*, *RHOD*, chronic gamma radiation exposure, human blood lymphocytes.

В настоящее время ионизирующее излучение (ИИ) активно используется в различных сферах деятельности человека (например, в медицине, производстве электро- и тепловой энергии, военной промышленности и др.). Это обстоятельство обуславливает актуальность изучения генетических изменений в клетке, в частности, эпигенетических процессов при воздействии ИИ. Одним из приоритетных направлений эпигенетики является изучение процесса метилирования ДНК, который является показателем, отражающим чувствительность ДНК к радиационному фактору. Например, хроническое воздействие ИИ на лейкоциты крови человека сопровождается aberrантным метилированием CpG-островков промоторов генов клеточного цикла, детоксикации ксенобиотиков [1] и апоптоза (например, *BCL2*) [2]. При этом гиперметилирование генов

имеет дозозависимый характер и сохраняется в лейкоцитах крови спустя длительное время после их облучения ИИ [3].

Целью работы являлось выявление ассоциации степени метилирования *GNAS*, *RABL6*, *RHOD* в лимфоцитах крови с дозой хронического облучения γ -излучением.

Материал и методы. Выборку составил персонал объекта использования ИИ, который не подвергался радиационному воздействию в ходе профессиональной деятельности (далее – группа контроля, $n = 47$) и персонал объекта использования ИИ, который подвергался хроническому техногенному профессиональному внешнему облучению в дозах от 10 до 700 мЗв (далее – группа исследования, $n = 116$). Сотрудники обеих групп не имели в анамнезе злокачественных новообразований и инфаркта миокарда.

Выбор генов осуществлялся в результате широкогеномного бисульфитного секвенирования ДНК после острого облучения крови в дозе 1,5 Гр *in vitro* [4]. В исследование включены гены (*GNAS*, *RABL6*, *RHOD*), степень метилирования которых показала зависимость от дозы облучения ИИ и ассоциирована с повышенной частотой хромосомных аберраций.

Для оценки степени метилирования исследуемых генов использовался метод метилчувствительной ПЦР (МЧ ПЦР) в режиме реального времени. Метод включал:

- 1) ДНК, обработанную и необработанную ферментом рестрикции BstНН I;
- 2) тест-систему, которая представляет собой совокупность локусов 5 генов – двух контрольных (внутренний контроль амплификации и контроль полноты гидролиза) и трёх целевых.

Определение степени метилирования ДНК проводили по значениям порогового цикла, рассчитываемого программой амплификатора. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения Statistica 8.0 (StatSoft, США). Для оценки статистически значимых различий между группой контроля и группой исследования использовался U-критерий Манна – Уитни. Оценка зависимости степени метилирования локусов целевых генов от дозы внешнего облучения проводили с использованием коэффициента корреляции Спирмена (Spearman R). Силу корреляционной связи оценивали по шкале Чеддока.

Результаты. Оценка степени метилирования генов *GNAS*, *RABL6*, *RHOD* между группами контроля и исследования статистически значимых различий не показала ($p = 0,75; 0,54; 0,28$, соответственно для *GNAS*, *RABL6*, *RHOD*). Однако выявлено различие по степени метилирования *RHOD* у мужчин и женщин ($p = 0,03$). При этом наблюдается повышение степени метилирования этого гена у женщин ($10,22 \pm 1,74$, тогда как у мужчин $6,60 \pm 0,58$; $p = 0,02$) только в группе исследования. Корреляционный анализ степени метилирования *RHOD* от дозы хронического внешнего облучения у женщин показал умеренную положительную связь (коэффициент корреляции Спирмена (далее – Spearman R) равен 0,38, $p = 0,04$). Наблюдается рост степени метилирования этого гена при дозе 20-160 мЗв. Дозовой зависимости степени метилирования *GNAS* и *RABL6* не было выявлено.

Поскольку степень метилирования *GNAS*, *RABL6*, *RHOD* оценивали в одной тест-системе, был проведён корреляционный анализ степени их метилирования между собой. В обеих группах наблюдали положительную корреляцию от умеренной (между *RABL6* и *RHOD* Spearman R = 0,46 и 0,47 соответственно в группе контроля и группе исследования, $p \leq 0,001$) до значительной (между *GNAS* и *RABL6* Spearman R = 0,52 и 0,51, $p < 0,001$; также между *GNAS* и *RHOD* Spearman R = 0,57 и 0,50, $p < 0,001$), что свидетельствует о взаимосвязи этих генов.

Таким образом, степень метилирования исследуемых генов (*GNAS*, *RABL6*, *RHOD*) в зависимости от наличия хронического внешнего облучения (γ -излучение) не отличается. Степень метилирования *RHOD* у женщин более чувствительна к радиационному воздействию, чем у мужчин. Выявление умеренной положительной корреляционной связи

степени метилирования *RHOD* с дозой 20-160 мЗв делает перспективным продолжение исследования степени метилирования генов методом МЧ ПЦР.

1. Изучение aberrантного метилирования в лейкоцитах крови ликвидаторов аварии на ЧАЭС / Н.С. Кузьмина, А.Е. Мязин, Н.Ш. Лаптева, А.В. Рубанович // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2014. – Т. 54, № 2. – С. 127-139.
2. Статус метилирования генов апоптоза и интенсивность апоптотической гибели лимфоцитов периферической крови у лиц, подвергавшихся хроническому радиационному облучению / Е.А. Блинова, В.С. Никифоров, А.И. Котикова, М.А. Янишевская, А.В. Аклев // Молекулярная биология. – 2022. – Т. 56, № 6. – С. 1072-1082. DOI: 10.31857/S0026898422050032.
3. Дозовая зависимость гиперметилирования промоторов генов в лейкоцитах крови лиц, подвергшихся облучению в результате профессиональной деятельности / Н.С. Кузьмина, Н.Ш. Лаптева, Г.Г. Русинова, Т.В. Азизова, Н.С. Вязовская, А.В. Рубанович // Современные вопросы радиационной генетики: мат. рос. конф. с междунар. участием, 27-28 июня 2019 г., Дубна. – Дубна, 2019. – С. 76-78.
4. Оценка ассоциации степени метилирования ДНК и частоты хромосомных aberrаций лимфоцитов человека при однократном облучении крови *in vitro* / О.С. Цымбал, Д.С. Исубакова, Е.В. Брониковская, А.Ф. Николаева, В.О. Сигин, А.И. Калинин, Ж.А. Старцева, Н.В. Литвяков, И.В. Мильто, Р.М. Тахауов // Генетика. – 2023. – Т. 59, № 11. – С. 1282-1289. DOI: 10.31857/S0016675823110152.

**СУБКОЛЛЕКЦИЯ ГЕНОМНОЙ ДНК ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ
БАНКА БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА
СЕВЕРСКОГО БИОФИЗИЧЕСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА**

*М.Ю. Цыпленкова¹, О.С. Цымбал¹, Т.В. Вишневецкая¹, Д.С. Иsubakova¹,
А.В. Кирейкова¹, И.В. Мильто^{1,2}, Р.М. Тахауов^{1,2}*

¹Северский биофизический научный центр Федерального медицинского-биологического агентства, Северск, Томская обл., Россия

²Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск, Россия

e-mail: mariatsyplenkova@yandex.ru, mail@sbrс.seversk.ru

Резюме. Дана характеристика субколлекции геномной ДНК лейкоцитов крови банка биологического материала Северского биофизического научного центра. Приведены методы выделения ДНК и методы проверки целостности ДНК, а также указаны условия хранения геномной ДНК. Описаны направления молекулярно-генетических исследований, выполняемые на основе материала субколлекции геномной ДНК.

Ключевые слова: банк биологического материала, ионизирующее излучение, субколлекция геномной ДНК, метод фенол-хлороформной экстракции, спин-колонки, магнитные частицы, электрофорез.

**SUBCOLLECTION OF GENOMIC DNA OF BLOOD LEUKOCYTES
OF THE BIOLOGICAL MATERIAL BANK
OF THE SEVERSK BIOPHYSICAL RESEARCH CENTER**

*M.Yu. Tsyplenkova¹, O.S. Tsymbal¹, T.V. Vishnevskaya¹, D.S. Isubakova¹,
A.V. Kireikova¹, I.V. Milto^{1,2}, R.M. Takhaouov^{1,2}*

¹Seversk Biophysical Research Center of the Federal Medical-Biological Agency, Seversk, Tomsk region, Russia

²Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

e-mail: mariatsyplenkova@yandex.ru, mail@sbrс.seversk.ru

Summary. The paper describes the subcollection of the genomic DNA of leukocytes from the blood bank of the biological material of the Seversk Biophysical Research Center. The methods of DNA isolation and methods of DNA integrity verification are given, as well as the conditions for storing genomic DNA are indicated. The directions of molecular genetic research performed on the basis of the genomic DNA subcollection material are described.

Key words: bank of biological material, ionizing radiation, sub-collection of genomic DNA, phenol-chloroform extraction method, spin columns, magnetic particles, electrophoresis.

Важным фактором организации современных молекулярно-генетических исследований является создание и ведение коллекций биологического материала, которые необходимы для корректного формирования репрезентативных выборок. Самой распространённой и оптимальной формой накопления биологического материала, продемонстрировавшей свою эффективность, является создание тематических банков биологического материала (ББМ). Основное значение ББМ заключается в сборе, систематизации, обработке и хранении биологического материала для проведения текущих исследований, а также работ, планируемых с учётом развития методической базы в будущем.

В связи с этим в 2002 г. в СБН Центре был создан ББМ, коллекция которого представлена пятью субколлекциями:

- геномная ДНК;
- биопсийный материал;

- аутопсийный материал;
- цитогенетические суспензии лимфоцитов крови;
- цельная венозная кровь.

Целью работы является описание субколлекции геномной ДНК лейкоцитов крови БМ СБН Центра.

В коллекцию БМ СБН Центра включается биологический материал от условно здоровых работников объектов использования ионизирующего излучения, подвергавшихся хроническому техногенному профессиональному облучению, которые не имеют в анамнезе инфаркта миокарда и злокачественных новообразований.

Важным этапом, определяющим результат различных генетических исследований, является выделение ДНК. На данный момент субколлекция геномной ДНК БМ СБН Центра представлена 3 158 образцами, выделенными из цельной крови. При формировании коллекции проводится предварительный выбор потенциальных доноров на основании анализа информации из базы данных регионального медико-дозиметрического регистра, содержащей информацию о возрасте, стаже работы, дозах облучения, профессиональном маршруте, перенесённых заболеваниях и др. [1]. От каждого донора получено добровольное информированное согласие на сбор биоматериала (цельной крови) и обработку персональных данных.

Выделение геномной ДНК из лейкоцитов крови в СБН Центре происходит тремя способами:

1. Метод фенол-хлороформной экстракции позволяет получить ДНК хорошего качества и высокой концентрации; выделенная ДНК стабильна и хорошо хранится в замороженном состоянии [2].

2. Использование спин-колонок приводит к снижению фрагментации и потерь ДНК при отмывках по сравнению с другими сорбентными методами выделения за счёт более эффективного связывания ДНК с мембраной колонки.

3. Экстракция с помощью магнитных наночастиц характеризуется большой ёмкостью сорбента, позволяющей выделять большие количества ДНК, и минимальными потерями в ходе выделения.

Оценка чистоты и концентрации ДНК в СБН Центре осуществляется на спектрофотометре EzDrop1000 (Blue-Ray Biotech, Тайвань). Целостность ДНК определяется с помощью электрофореза в 2%-м агарозном геле на TBE-буфере по наличию высокомолекулярных бэндов [3]. Выделенная ДНК хранится в пробирках типа Eppendorf (1,5 мл) при -20 °С в морозильной камере. Для длительного хранения используется низкотемпературный морозильник (-80 °С).

На основе материала субколлекции геномной ДНК лейкоцитов крови БМ СБН Центра проводятся работы по выявлению эффектов радиационного воздействия на организм человека, изучение механизмов формирования и повышенного уровня индивидуальной радиочувствительности, а также оценка степени метилирования генов разных систем клетки.

1. Тахауов Р.М., Исубакова Д.С., Брониковская Е.В., Цымбал О.С., Халюзова М.В., Тахауова Л.Р., Карпов А.Б., Литвяков Н.В., Мильто И.В. Банк биологического материала Северского биофизического научного центра // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2020. – Т. 65, № 2. – С. 21-26.

2. Межеричкий С.А., Тахауов Р.М., Карпов А.Б., Литвяков Н.В., Васильева Е.О., Гончарик О.О., Фрейдин М.Б., Альбах Е.Н., Бондарюк А.А., Миронова Е.Б., Скобельская Е.В., Семёнова Ю.В., Некрасов Г.Б., Изосимов А.С., Гагарин А.А. Банк биологического материала здоровых работников Сибирского химического комбината // Медицина экстремальных ситуаций. – 2013. – Т. 43, № 1. – С. 30-39.

3. Жиленкова Ю.И., Филимонова А.С. Методы выделения ДНК / Актуальные проблемы медицины XXI века. – Уфа: Аэтерна, 2014. – 74 с.

ОЦЕНКА ДЕПРЕССИВНОПОДОБНОГО СОСТОЯНИЯ У МЫШЕЙ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ФРАКЦИОНИРОВАННОМ ГАММА-ОБЛУЧЕНИИ

И.А. Шапошникова, Н.И. Атаманюк, Н.А. Обвинцева, Е.А. Пряхин

Уральский научно-практический центр радиационной медицины ФМБА России,
Челябинск, Россия
e-mail: shaposhnikova@lenta.ru

Резюме. При длительном фракционированном гамма-облучении мышей линии C57Bl/6 в кумулятивных дозах 0,1 Гр, 1 Гр и 5 Гр в течение первого месяца после рождения отмечено снижение показателей депрессивноподобного поведения в тесте удержания хвоста при облучении в дозе 5 Гр. У этих же животных в возрасте 6 мес. зарегистрировано дозозависимое снижение проявлений депрессивноподобного поведения у мышей.

Ключевые слова: фракционированное облучение, тест удержания хвоста, депрессивноподобное состояние

ASSESSMENT OF DEPRESSION-LIKE STATE IN MICE UNDER LONG-TERM FRACTIONATED GAMMA IRRADIATION

I.A. Shaposhnikova, N.I. Atamanyuk, N.A. Obvintseva, E.A. Pryakhin

Urals Research Center for Radiation Medicine, Chelyabinsk, Russia
e-mail: shaposhnikova@lenta.ru

Summary. With long-term fractionated gamma irradiation of C57Bl/6 mice at cumulative doses of 0.1 Gy, 1 Gy and 5 Gy, a decrease in indicators of depressive-like behavior in the tail hold test was observed when irradiated at a dose of 5 Gy. In the same animals, at the age of 6 months, a dose-dependent decrease in the manifestations of depressive-like behavior in mice was recorded.

Key words: fractionated irradiation, tail hold test, depression-like state

Проблема радиационной защиты человека в настоящее время определяется планированием программ межпланетных перелетов, все более широким внедрением ядерных технологий, резко возросшим риском применения ядерного оружия, необходимостью защиты здоровых органов и тканей пациентов при проведении лучевой терапии и применении технологий ядерной медицины.

Высокие дозы ионизирующего излучения в режиме острого облучения являются признанным фактором риска для развития когнитивной дисфункции и тревожных расстройств у человека и экспериментальных животных, тогда как данных о действии пролонгированного или хронического облучения гораздо меньше [1].

Цель данной работы: изучить влияние длительного радиационного воздействия в ранний постнатальный период в малых, средних и больших дозах на развитие депрессивноподобных изменений в центральной нервной системе в эксперименте.

Работа выполнялась на мышах линии C57Bl/6 обоего пола (питомник SPF-вивария ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск). Животных подвергали фракционированному облучению в течение первого месяца жизни. Облучение проводили на установке ИГУР-1М (ЗАО «Квант», Россия), имеющей 4 ¹³⁷Cs-источника, мощность дозы 0,91 Гр/мин, неравномерность гамма-поля в рабочем пространстве не более 10 %. Для облучения мышей помещали внутрь установки в домашних клетках, удаляя из них на время облучения кормящих самок. Аналогичные процедуры проводили с животными группы ложного облучения (0 Гр). Мыши группы биологического контроля не подвергались никаким воздействиям в первый месяц жизни.

Были сформированы следующие экспериментальные группы: 1) интактные животные (биологический контроль – БК) (75 мышей); 2) животные, подвергнутые

ложному облучению (78 мышей); 3) животные, облученные в кумулятивной дозе 0,1 Гр (79 мышей); 4) животные, облученные в кумулятивной дозе 1 Гр (80 мышей); 5) животные, облученные в кумулятивной дозе 5 Гр (107 мышей). Все мыши были индивидуально промаркированы путем перфорации ушных раковин.

Оценку депрессивноподобного состояния у экспериментальных животных проводили с помощью теста удержания хвоста, аналога теста принудительного плавания Порсольта. Депрессивноподобное состояние животных в эксперименте оценивали исходя из времени, в течение которого животное от активных попыток освободиться из неприятного положения (подвешивание за хвост) переходит к неподвижности, зависанию, которое ассоциируют с потерей надежды и поведением отчаяния [2]. Для выполнения теста мышей подвешивали за хвост с помощью малярного скотча к алюминиевой перекладине, расположенной на двух штативах. Одновременно тестировали по 4 животных, разделяя их друг от друга картонными перегородками. На хвост надевали пластиковые трубочки длиной в 2/3 хвоста, чтобы предотвратить возможность мыши взбираться вверх по своему хвосту. Длина ленты для подвешивания составляла 15 см. Между носом мыши и поверхностью стола оставалось не менее 30 см. После подвешивания фиксировали поведение мышей на видео (фотокамера Sony α 37) в течение 6 минут, после чего освобождали животных [2].

Регистрировали суммарное время, в течение которого мыши висели неподвижно, не предпринимая активных попыток освободиться, и число таких неподвижных зависаний у мышей в возрасте 1 месяц и 6 месяцев. Учет показателей проводили с использованием программы RealTimer (ООО «НПК Открытая Наука», Россия).

Данные анализировали в программе Microsoft Excel и R, результаты выражали в виде средних значений и стандартных ошибок ($M \pm SE$). Оценивали соответствие измеренных показателей в каждой группе нормальному распределению по критерию Колмогорова-Смирнова. Экспериментальные группы сравнивали с помощью t-критерия Стьюдента. Принимали уровень значимости $\alpha=0,05$.

В группе БК распределение анализируемых показателей (число неподвижных зависаний, общее время неподвижности) статистически значимо не отличалось от нормального. Значения этих показателей в группе БК у самцов и у самок статистически значимо не отличались. Далее анализировали данные признаки в каждой экспериментальной группе без разделения по полу.

Через 1 мес. после начала облучения в группе биологического контроля общее время неподвижности составило 229 ± 5 с, а среднее число зависаний $10,8 \pm 0,3$. Стресс, связанный с ложным облучением, приводил к снижению времени неподвижности. Здесь значение этого показателя составило 172 ± 7 с, что было на 8% меньше, чем в группе биологического контроля. В группе, где животные подверглись фракционированному гамма-облучению в дозе 5 Гр, было выявлено статистически значимое снижение времени неподвижности на 19 % по отношению к значению показателя в группе 0 Гр и составило 172 ± 7 с. При проведении регрессионного анализа было выявлено, что доза радиационного воздействия оказывает статистически значимое влияние на общее время неподвижности ($R^2=0,14$; $F=66,6$; $p < 0,001$).

У мышей из группы биологического контроля в возрасте 6 мес. было зарегистрировано двукратное снижение времени неподвижности – 106 ± 6 с и снижение числа зависаний на 30 % ($7,5 \pm 0,3$) по сравнению с этими же животными в возрасте 1 мес. У животных из группы ложного облучения с возрастом эти показатели снизились существенно меньше. В группе ложного облучения время зависания было больше, чем в биологическом контроле на 76% (186 ± 11 с), а число зависаний было больше на 71% ($12,8 \pm 0,8$). Это свидетельствует о том, что перенесенный в раннем возрасте стресс, связанный с ложным облучением, через 5 мес. приводит к депрессивноподобному состоянию у мышей.

Радиационное воздействие, как следует из данных регрессионного анализа,

привело к дозозависимому снижению как общего времени неподвижности ($R^2 = 0,07$; $F = 23,6$; $p < 0,001$), так и числа зависаний ($R^2 = 0,07$; $F = 24,6$; $p < 0,001$). Общее время зависания у мышей в группе 0,1 Гр составило 132 ± 6 с, в группе 1 Гр – 101 ± 6 и в группе 5 Гр – 104 ± 7 с. А число зависаний составило $9,1 \pm 0,4$, $8,3 \pm 0,3$ и $7,6 \pm 0,4$ соответственно. Все эти показатели с высокой степенью достоверности отличались от значений показателей в группе 0 Гр.

Таким образом, фракционированное облучение в ранний постнатальный период приводит к дозозависимому снижению проявлений депрессивноподобного поведения у мышей в возрасте 1 и 6 мес.

1. Pasqual E., Boussin F., Bazyka D., Nordenskjold A., Yamada M., Ozasa K., Pazzaglia S., Roy L., Thierry-Chef I., de Vathaire F., Benotmane M.A., Cardis E. Cognitive effects of low dose of ionizing radiation – Lessons learned and research gaps from epidemiological and biological studies // *Environ Int.* 2021. V. 147. P. 106295. doi: 10.1016/j.envint.2020.106295. Epub 2020 Dec 17.
2. Can A., Dao D.T., Terrillion C.E. et al. The tail suspension test // *J Vis Exp.* 2012. V. 59. P. e3769. doi: 10.3791/3769.

К ОПРЕДЕЛЕНИЮ КОЭФФИЦИЕНТА МОДИФИКАЦИИ (КМ₀) ОТДАЛЕННЫХ РАДИАЦИОННЫХ ЭФФЕКТОВ У КОСМОНАВТОВ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНЫХ ОРБИТАЛЬНЫХ ИЛИ МЕЖПЛАНЕТНЫХ ПОЛЕТОВ ЗА СЧЕТ ДЕЙСТВИЯ НЕЛУЧЕВЫХ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ В КОСМИЧЕСКОМ ПОЛЕТЕ (КП)

А.В. Шафиркин, А.Л. Васин

Государственный научный центр РФ – Институт медико-биологических проблем РАН,
Москва, Россия

e-mail: a.v.shafirkin@mail.ru

Резюме. Представляются расчетные и экспериментальные материалы к обоснованию КМ₀ отдаленного радиационного ответа организма космонавтов после длительных экспедиций за счет действия также других стрессовых факторов во время полетов. Это обоснование проведено на основе экспериментов, свидетельствующих об усилении напряженного характера работы регуляторных систем организма, данных о более ускоренном старении организма, снижении его компенсаторных резервов и сокращении продолжительности жизни (ПЖ) животных и человека, с использованием обобщенного логарифмического показателя (ОЛП).

Ключевые слова: комплексное действие радиации, невесомости и других факторов в КП, коэффициент модификации КМ₀ радиационного ответа организма, характеристики адаптационных процессов, напряжение регуляторных систем организма, уровень его функциональных резервов, ускоренное старение и сокращение ПЖ.

TO THE DETERMINATION OF THE MODIFICATION COEFFICIENT (CM₀) OF LONG-TERM RADIATION EFFECTS IN COSMONAUTS AFTER LONG-TERM ORBITAL OR INTERPLANETARY FLIGHTS DUE TO THE ACTION OF NON-RADIATION STRESS FACTORS IN SPACE FLIGHT (SF)

A.V. Shafirkin, A.L. Vasin

State Scientific Center of the Russian Federation – Institute of Medical and Biological Problems
of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

e-mail: a.v.shafirkin@mail.ru

Summary. Calculation and experimental materials are presented to substantiate the CM₀ of the long-term radiation response of the body of astronauts after long expeditions due to the action of other stress factors during flights. This substantiation was carried out on the basis of experiments indicating an increase in the intense nature of the work of the body's regulatory systems, data on more accelerated aging of the body, a decrease in its compensatory reserves and a reduction in life expectancy (LE) of animals and humans, using the generalized logarithmic index (GLI).

Key words: complex effect of radiation, weightlessness and other factors in the SF, coefficient of modification of the body's radiation response, characteristics of adaptation processes, tension of the body's regulatory systems, the level of its functional reserves, accelerated aging and shortening of the lifespan.

К настоящему времени в мире проведено очень большое число экспериментов для оценки опасности космических излучений, решения вопросов нормирования и обеспечения радиационной безопасности орбитальных КП. В работе [1] представлены в обобщенном виде результаты 55-летних исследований по космической радиобиологии, проведенных в мире, а также в СССР. К сожалению, значительно меньше экспериментов и материалов по оценке сочетанного действия радиации и других стрессовых факторов, присущих длительным космическим полетам. Еще меньше исследований, в которых на строго количественной основе делаются попытки определить суммарный радиационный риск (СРР) в течение жизни космонавтов и возможное сокращение их ПЖ после

длительных орбитальных полетов или после завершения карьеры. Еще более сложно оценить эти показатели после осуществления экспедиции на Марс в условиях комплексного действия радиации и других стрессовых факторов космического полета.

Мы в наших исследованиях для строгого количественного описания отклонения от нормы (нулевой уровень) и последующего изменения состояния различных систем и жизнеспособности организма(ЖО) при действии радиации и других стрессовых факторов, присущих длительному космическому полету, использовали для характеристики адаптационных процессов разработанный нами обобщенный логарифмический показатель (ОЛП [2]. Как показано в этой работе, данный показатель, изменяющийся пределах от 0,01 до 1,0, позволяет с большой точностью описывать характер адаптационных процессов при раздельном, а также при сочетанном длительном действии ионизирующих излучений (ИИ), химическом загрязнении воздушной среды, электромагнитных полей и других факторов. Можно четко зафиксировать периоды нарастания поражения в различных исследуемых системах, фазы стабилизации или даже снижения поражения, обусловленных включением основных регуляторных систем (РС) организма с выраженным их напряжением или даже резким перенапряжением.

С методической точки зрения в отношении прогноза отдаленных неблагоприятных последствий, при длительном действии внешних факторов различной интенсивности, представляются данные, изложенные в работе [3], в которой на основе значительного числа показателей вариации сердечного ритма (ВСР) рассмотрены вопросы состояния сердечно-сосудистой системы (ССС), ее регуляции, представлены различные характеристики адаптационных процессов. При сравнительно небольших интенсивностях действия факторов имеет место нормальная физиологическая адаптация (НФА), при которой отсутствуют проявления, касающиеся включения и какого-либо напряжения регуляторных систем (РС) организма. В случае увеличения интенсивности действия фактора, для компенсации возникающих негативных изменений в ССС, наблюдается переход от нормы к активной адаптации (АА), характеризуемой выраженным и резко выраженным напряжением РС, с подключением центрального и вегетативного звена нервной системы. При более высоких интенсивностях действующего фактора, имеет место неудовлетворительная адаптация (НА), которая сопровождается преморбидными состояниями и выраженным и резко выраженным перенапряжением РС. Еще более высокие интенсивности с большой вероятностью могут приводить к срыву адаптации (СА), развитию различных заболеваний и повышению риска смертности.

Градации указанных состояний ССС и различных уровней адаптации, определяющих переход от нормы к ряду донозологических и преморбидных состояний, а также к заболеваемости организма после СА, построена на все более увеличивающемся уровне напряжения и даже перенапряжения РС для поддержания жизнедеятельности организма. Длительное нахождение организма в условиях активной и неудовлетворительной адаптации, приводит к постоянному с той или иной скоростью снижению общего генотипически обусловленного и развитого к 20 годам объема функциональных резервов организма. Значительное истощение компенсаторных резервов увеличивает вероятность срыва адаптации и различных заболеваний со стороны ССС и других систем организма. Это может приводить, в соответствии с моделью радиационной скорости смертности млекопитающих к ускоренному старению, возрастным изменениям коэффициентов смертности и сокращению ПЖ [1, 3].

С точки зрения определения коэффициента модификации радиационного воздействия K_{M_0} , применительно к оценкам риска отдаленных неблагоприятных последствий, очень важные результаты в отношении сочетанного действия невесомости и ионизирующих излучений (ИИ), были получены при сопоставлении результатов, на двух биологических спутниках «Космос - 605», где определяющим фактором была невесомость, и на спутнике «Космос - 690» с гамма - источником излучения на борту, где в группе крыс, получивших в середине полета дозу 220 сГр, имело место сочетанное

выраженное действие факторов и ведущими могли бы оказаться ИИ. Животных после полета наблюдали в течение 37 суток, и можно было сравнивать процесс восстановления в различных системах организма крыс после полетов на этих спутниках. Было получено, что скорость восстановления в радиорезистентных костной и мышечной тканях была ниже после Космоса-690, чем после «Космос-605» что связано с дополнительным выраженным влиянием ИИ на эти процессы. Кроме того, скорость восстановления радиочувствительных тканей (для стволовых кроветворных клеток и костномозгового кроветворения) после спуска крыс со спутника «Космос -690» была также значительно ниже, чем в контрольной группе на Земле при действии только ИИ. Можно заключить, что в этом случае также отчетливо выражена синергия сочетанного действия факторов. В этой связи можно утверждать, что значение K_{MO} по крайней мере больше 1,0. Об этом же свидетельствуют данные об однонаправленном негативном действии ИИ и невесомости в отношении нарушении состояния сосудистой стенки в отдаленном периоде, развитии склероза сосудов сердца, легких, почек, печени и других органов [1, 4].

Материалы, представленные в работе [5] по риску экологической опасности действия химического загрязнения воздуха городов России с развитой промышленностью и широкой транспортной сетью, с использованием обобщенного показателя химической нагрузки, показали, что химический фактор по приращению коэффициентов смертности в период 1980-1990 гг. сопоставим, а в некоторых городах превышает расчетные риски действия ИИ на Земле в атомной промышленности. При сочетанном действии факторов значение K_{MO} может быть принято, по крайней мере, равным 2,0. Такой же вывод может быть сделан на основе модели сочетанного длительного действия радиации, экологических и социальных факторов, представленной в работах [6, 7].

1. Григорьев Ю.Г., Ушаков И.Б., Красавин Е.А., Давыдов Б.И., Шафиркин А.В. Космическая радиобиология за 55 лет (К 50-летию ГНЦ РФ-ИМБП РАН). М.: Экономика, 2013. 302 с.
2. Шафиркин А.В., Васин А.Л., Штемберг А.С. Обобщенный логарифмический показатель в системе интегральных показателей для характеристики адаптации, определения степени напряжения регуляторных систем при длительном действии экстремальных факторов окружающей среды // Авиакосмическая и экологическая медицина, 2013, Т.47, №6, С. 3-10
3. Григорьев А.И., Баевский Р.М. Концепция здоровья и космическая медицина. М., Слово 2007
4. Григорьев Ю.Г., Попов В.И., Шафиркин А.В., Антипенко Ж.Б. Соматические эффекты хронического гамма- облучения. Москва, Энергоатомиздат, 1986, 196 с..
5. Шафиркин А.В. Развитие концепции приемлемого риска //Инженерная физика), 2001, N 4, С. 32-37
6. Шафиркин А.В. Компенсаторные резервы организма и здоровье населения в условиях хронических антропогенных воздействий и длительного психоэмоционального стресса //Физиология человека. 2003. Т. 29. N 6. С. 12-22
7. Шафиркин А.В., Васин А.Л. Резервы организма, ускоренное старение и сокращение продолжительности жизни человека в условиях длительного действия ЭМП РЧ нетепловых интенсивностей, а также ряда других стрессорных факторов. В кн.: Ежегодник Российского Национального Комитета по защите от неионизирующих излучений 2007 г. М.: Из-во АЛЛАНА, 2007 С. 40-59

НОВОЕ МУЛЬТИТАРГЕТНОЕ ПРОИЗВОДНОЕ ИЗОТИУРОНИЯ ПОВЫШАЕТ ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАДИОТЕРАПИИ

А.А. Шитова, О.В. Солдатова, А.С. Филимонов, К.А. Николаев, В.А. Рыбачук,
А.О. Косаченко, И.К. Волкова, Л.И. Шевченко, М.В. Филимонова
Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба –
филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия
e-mail: AnnaRedRose@mail.ru

Резюме. В экспериментах на мышах-опухоленосителях исследована противоопухолевая эффективность комбинированного применения оригинального мультитаргетного соединения, обладающего NOS-/PDK-ингибирующей активностью, и разных режимов радиотерапии. Показано, что мультитаргетное соединение усиливает противоопухолевые эффекты гамма-облучения без развития токсических эффектов.

Ключевые слова: гипоксия, антиангиогенное действие, гипоксия-ориентированное действие, адьювантная противоопухолевая терапия

NEW MULTITARGETED ISOTHIURONIUM DERIVATIVE INCREASES THE EFFECTIVENESS OF RADIOTHERAPY

A.A. Shitova, O.V. Soldatova, A.S. Filimonov, K.A. Nicolaev, V.A. Rybachuk,
A.O. Kosachenko, I.K. Volkova, L.I. Shevchenko, M.V. Filimonova
A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical
Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation (A. Tsyb
MRRC), Obninsk, Russia
e-mail: AnnaRedRose@mail.ru

Summary. In experiments on tumor-bearing mice, the antitumor efficacy of the combined use of an original multitarget compound with NOS/PDK inhibitory activity and different modes of radiotherapy was studied. The multitarget compound has been shown to enhance the antitumor effects of gamma irradiation without developing toxic effects.

Key words: hypoxia, antiangiogenic effect, hypoxia-oriented effect, adjuvant antitumor therapy

На сегодняшний день в Российской Федерации на учёте с различными онкологическими заболеваниями состоит более 4 миллионов больных, которые нуждаются в эффективном лечении [1].

К настоящему времени известно, что гипоксическая резистентность часто является причиной низкой эффективности многих видов противоопухолевого лечения, включая лучевую и антиангиогенную терапию. В основе этой проблемы лежит способность клеток изменять свой метаболизм в условиях гипоксии. Гипоксический пул клеток характеризуются повышенным метаболизмом глюкозы (гликолиза), высоким уровнем лактата и низкой активностью цикла трикарбоновых кислот (ТКА). На сегодняшний день гликолитический фенотип опухолевых клеток признан отличительной метаболической особенностью многих типов рака [2].

Для повышения эффективности антиангиогенной терапии в лаборатории радиационной фармакологии МРНЦ им. А.Ф. Цыба (г. Обнинск) был предложен новый подход к дизайну противоопухолевых средств, заключающийся в сочетании на уровне одной химической структуры антиангиогенного (NOS-ингибирующего) и гипоксия-ориентированного (PDK-ингибирующего) фрагментов. В ранее проведенных исследованиях было показано, что NOS-/PDK-ингибитор (далее мультитаргетное соединение) является безопасным и вызывает стабильное и выраженное торможение роста ряда перевиваемых солидных опухолей мышей [3, 4].

Цель работы состояла в исследовании противоопухолевой эффективности оригинального мультитаргетного соединения на моделях однократной и фракционированной радиотерапии.

Материалы и методы. Исследование противоопухолевой эффективности комбинированного применения мультитаргетного соединения и однократной или фракционированной радиотерапии проведено на солидной карциноме Эрлиха (СКЭ). Опухоль формировали подкожной трансплантацией взвеси опухолевых клеток СКЭ в латеральную поверхность правого бедра в количестве $2,5 \cdot 10^6$ клеток в среде 199 (ПанЭко, Россия). Для моделирования однократной и фракционированной радиотерапии в работе применялось локальное воздействие γ -излучением ^{60}Co (1-кратно в дозе 10Гр или 5-кратно в дозе 3,9 Гр) на исследовательской установке «Агат» при мощности дозы 1 Гр/мин.

Были проведены две серии экспериментов по аналогичной схеме. Мышей F1 (СВА×С57BL/6j) делили на 4 группы: две контрольных (контроль роста опухоли и облучения) и 2 опытных группы, по 17-18 мышей. На 8-е сутки опухоли мышей групп контроль облучения и комбинации γ -излучения с мультитаргетным соединением облучали локально в дозах 10 Гр (однократно) или 3,9 Гр×5 (фракционированно). В этот же день и далее до 20 суток ежедневно опытные животные третьей и четвертой групп получали ежедневные инъекции мультитаргетного соединения в дозе 70.7 мг/кг, а животные контрольной группы получали 0.9% раствор натрия хлорида.

Результаты. На модели однократной радиотерапии СКЭ было показано, что в группах мышей, получавших отдельные воздействия γ -облучением и мультитаргетным соединением, наблюдался сходный по выраженности и динамике противоопухолевый эффект, сопровождающийся умеренной задержкой роста СКЭ (на 30%).

При этом комбинированное применение мультитаргетного соединения с γ -облучением оказывало более выраженное возрастание противоопухолевого эффекта с торможением роста до 50% и уже с 6 суток противоопухолевый эффект комбинированного воздействия превосходил раздельное действие этих агентов.

Похожая картина наблюдалась и на модели фракционированной радиотерапии СКЭ. Самостоятельное применение мультитаргетного соединения тормозило рост СКЭ на 20-25%. Противоопухолевый эффект в группе животных, получавшей только фракционированное облучение был более выражен, чем в группе, получавшей препарат. Торможение роста опухоли в данной группе развивалось уже после второй фракции и достигало своего максимума через неделю после проведения первого сеанса лучевой терапии (ТРО=30-35%).

В тоже время в группе животных, получавших комбинацию наблюдалось выраженное, статистически значимое возрастание противоопухолевого эффекта, который развивался уже к 3 суткам комбинированного воздействия и в дальнейшем до конца опыта торможение роста неоплазии было выраженным и сохранялось на уровне 40-45%. Кроме того, с 4-х суток терапии противоопухолевый эффект комбинированного применения значимо превосходил самостоятельное действие мультитаргетного соединения, а с 11-х суток превосходил и самостоятельное действие фракционированного облучения.

Совокупность полученных данных свидетельствует, что мультитаргетное производное изотипуриона с NOS/PDK-ингибирующей активностью синергически повышает противоопухолевые эффекты гамма-облучения, и такая комбинация не вызывает развития каких-либо токсических эффектов.

1. Каприн, А.Д. Состояние онкологической помощи населению России в 2022 году / А.Д. Каприн, В.В. Старинский, А.О. Шахзадова и др. – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена - филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2022. – 239 с.

2. Huang, M. New insights into antiangiogenic therapy resistance in cancer: Mechanisms and therapeutic aspects / M. Huang , Y. Lin, C. Wang, L. Deng, M. Chen, Y. Assaraf, Z. Chen, W. Ye, D. Zhang // Drug Resist Updat. – 2022. – V.64:100849
3. Filimonova, M Combination of NOS-and PDK-Inhibitory Activity: Possible Way to Enhance Antitumor Effects / A Shitova, O Soldatova, L Shevchenko, A Saburova, T Podosinnikova, V Surinova, P Shegay, A Kaprin, S Ivanov, A Filimonov // Int. J. Mol. Sci.– 2022. – V. 23. – №2: 730
4. Филимонова, М.В. Сравнительное исследование противоопухолевой активности ингибитора синтаз оксида азота T1023 и ингибитора PDK1 дихлорацетата при их раздельном и сочетанном применении // Т.С. Подосинникова, А.С. Самсонова, В.М. Макачук, Л.И. Шевченко, А.С.Филимонов / Бюллетень экспериментальной биологии и медицины – 2019. – Т. 168. – № 7. – С. 106-108.

НОВЫЕ АСПЕКТЫ УЧАСТИЯ ПРОЦЕССОВ ОКИСЛЕНИЯ В ФОРМИРОВАНИИ ПОСЛЕДСТВИЙ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ В МАЛЫХ ДОЗАХ

Л.Н. Шишкина, М.В. Козлов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия
e-mail: shishkina@sky.chph.ras.ru

Резюме. В экспериментах на мышах показано, что исходное состояние параметров физико-химической системы регуляции перекисного окисления липидов (величина антиокислительной активности липидов, содержание минорных фракций фосфолипидов и физико-химические свойства липидов органов, интенсивность процессов ПОЛ) обуславливают формирование последствий воздействия ионизирующих излучений в малых дозах и функционирование мембранной системы органа.

Ключевые слова: перекисное окисление, регуляция, малые дозы, фосфолипиды, внеклеточная ДНК, печень, плазма крови, головной мозг.

NEW ASPECTS OF PARTICIPATION OF THE OXIDATION PROCESSES IN FORMING OF CONSEQUENCES OF IONIZING RADIATION ACTION AT LOW DOSES

L.N. Shishkina, M.V. Kozlov

N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
e-mail: shishkina@sky.chph.ras.ru

Summary. The initial state of parameters of the lipid peroxidation (LP) physicochemical regulatory system (value of the antioxidative activity of lipids, the content of the minor fractions of phospholipids and the physicochemical properties of lipids in organs, the LP process intensity) is shown to be due to the forming of consequences of the ionizing radiation action at the low doses in experiments on mice and functioning of the membrane system of organ.

Key words: lipid peroxidation, regulation, low doses, phospholipids, cell- free DNA, liver, blood plasma, brain.

Процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) в эволюционном плане являются наиболее ранним механизмом защиты биологических объектов от воздействия повреждающих факторов физической и химической природы. Бурное развитие мембранологии в 70-х годах прошлого столетия позволило установить наличие тесной связи между строением биологических мембран и их функциональной активностью и сформулировать представление о мембране как мишени, наряду с ДНК, в радиационном поражении клетки. В последствии экспериментально было показано, что стационарность процессов ПОЛ поддерживается физико-химической системой регуляции, обеспечивая стабильность метаболизма [1, 2]. Необходимо учитывать, что данная система регуляции существует в биологических системах любой степени сложности, а мембранная системы регуляции ПОЛ клетки и органа функционирует как единое целое [3].

Однако чувствительность параметров к действию различных повреждающих факторов, как и их возможность нормализации после воздействий неодинакова, что приводит к нарушению взаимосвязей между тесно скоординированными в норме параметрами системы регуляции ПОЛ, обуславливая возможность оценивать степень воздействий и исследовать механизм их формирования. В последние годы установлено, что исходное состояние параметров системы регуляции играет более существенную роль в формировании последствий воздействия физических и химических факторов на организм в малых дозах [4]. Так, интенсивность процессов ПОЛ в органах, о которой в

сложных биологических системах судят по содержанию реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой продуктах окисления (ТБК-АП), оказывает существенное влияние на масштаб и характер взаимосвязей между способностью липидов органов к окислению и структурным состоянием его мембранной системы при слабых повреждающих воздействиях [4, 5]. Масштаб прямой корреляции между содержанием внеклеточной ДНК и интенсивностью процессов ПОЛ в плазме крови мышей зависит от мощности дозы рентгеновского облучения, природы химического фактора и его концентрации. Выявление в последние десятилетия сигнальных функций у минорных фракций фосфолипидов привело к пониманию их роли в адаптивных перестройках клеточного метаболизма в органах природных популяций грызунов, отловленных на участках с повышенным радиационным фоном [6].

Таким образом, накопление экспериментальных данных и анализ литературы выявили важность таких параметров физико-химической системы регуляции ПОЛ как исходная интенсивность процессов ПОЛ и изменение количественного соотношения минорных фракций фосфолипидов при формировании последствий воздействия слабых повреждающих факторов физической и химической природы на организм млекопитающих.

1. Burlakova Ye.B. Pal'mina N.P., Mal'tseva Ye.L., A physicochemical system regulating lipid peroxidation in biomembranes during tumor growth // Membrane Lipid Oxidation / Ed/ Vigo Pelfrey. V. III. Boston; CRC Press, 1991. P. 209–237.
2. Шишкина Л.Н., Кушнирева Е.В., Смотряева М.А. Новые подходы к оценке биологических последствий воздействия радиации в малых дозах // Радиационная биология. Радиоэкология. 2004. Т. 44. № 3. С. 289–295.
3. Шишкина Л.Н., Бурлакова Е.Б. Значение антиоксидантных свойств липидов в лучевом поражении и репарации мембран // Панорама современной химии в России. Химическая и биологическая кинетика. Т. 2. Биологическая кинетика. М.: Химия, 2005, С. 365–395.
4. Климович М.А., Козлов М.В., Шишкина Л.Н. Изменение показателей липидов печени мышей спустя месяц после воздействия на организм низкоинтенсивного рентгеновского излучения в малых дозах переменной мощности // Радиационная биология. Радиоэкология. 2012. Т. 52. № 1. С. 58–65.
5. Кудяшева А.Г., Загорская Н.Г., Раскоша О.В., Шишкина Л.Н. Регуляция окислительных процессов в органах мышей при действии химических и физических факторов в малых дозах // Биофизика. 2021. Т. 66. № 4. С. 741–749.
6. Шишкина Л.Н., Кудяшева А.Г. Минорные фракции фосфолипидов в механизме адаптации диких грызунов к повышенному радиационному фону // Радиационная биология. Радиоэкология. 2023. Т. 63. № 2. С. 138–145.

АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ СПИРУЛИНЫ, АКТИВИРУЕМОЙ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИЕЙ, В КАЧЕСТВЕ НЕЙРОПРОТЕКТОРНОГО СРЕДСТВА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НИЗКОДОЗОВОГО РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ

В.М. Шемелев, Н.В. Чуешова

Государственное научное учреждение «Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси», Гомель, Беларусь
e-mail: shemelev_vlad@mail.ru

Резюме. Настоящее исследование направлено на изучение нейропротекторных свойств сине-зеленых водорослей *Arthrospira platensis* в условиях хронического (фракционированное) низкодозового облучения на содержание биогенных моноаминов, их предшественников и производных в гипоталамусе мышей С57В1/6. Для анализа содержания биогенных моноаминов, использовали высокоэффективную жидкостную хроматографию с флуоресцентным детектированием. Результаты выявили значительные изменения в содержании биогенных моноаминов у субъектов, подвергшихся ионизирующему излучению и принимавших спирулину.

Ключевые слова: рентгеновское излучение, головной мозг, дофамин, серотонин, спирулина, жидкостная хроматография.

ASPECTS OF USE OF SPIRULINA, ACTIVATED BY IONIZING RADIATION, AS A NEUROPROTECTOR AGAINST LOW-DOSE X-RAY IRRADIATION

V. M. Shemelev, N. V. Chueshova

State scientific institution "Institute of Radiobiology of the National Academy of Sciences of Belarus", Gomel, Belarus
e-mail: shemelev_vlad@mail.ru

Summary. This study is aimed at studying the neuroprotective properties of blue-green algae *Arthrospira platensis* under conditions of chronic (fractionated) low-dose irradiation on the content of biogenic monoamines, their precursors and derivatives in the hypothalamus of C57B1/6 mice. To analyze the content of biogenic monoamines, high-performance liquid chromatography with fluorescent detection was used. The results revealed significant changes in biogenic monoamine levels in subjects exposed to ionizing radiation and taking spirulina.

Key words: x-ray radiation, brain, dopamine, serotonin, spirulina, liquid chromatography.

В настоящее время воздействие ионизирующего излучения в результате медицинской диагностики и лечения составляет самый большой процент среднегодового радиационного облучения. Увеличение доступности и полезности ионизирующего излучения в медицинских целях требует переоценки данных о биологическом воздействии высоких и низких доз ионизирующего излучения, особенно на центральную нервную систему (ЦНС). В последнее время некоторые исследования продемонстрировали нейропротекторную роль спирулины при старении и многих патологических состояниях, включая неврологические и нейродегенеративные заболевания. Спирулина не только благотворно влияет на развитие нервной системы, но и оказывает нейропротекторное действие, снижая окислительный стресс и обладая антиоксидантными свойствами. Это богатый источник ПХБ, ингибитора НАДФН-оксидазы, которая, как считается, способствует окислительному стрессу при различных неврологических / нейродегенеративных заболеваниях, основная причина которых как считается связана с дисбалансом нейроактивных соединений. В свою очередь воздействие стрессоров (ионизирующее излучение, температура, свет) активизирует синтез биологически активных веществ в клетках водорослей и используется для усиления ее полезного действия. Тем не менее, до сих пор немногочисленны исследования, посвященные

влиянию применения биомассы спирулины, в том числе активированной, на содержание нейрореактивных веществ в структурах головного мозга и последствиям ее использования в качестве нейропротекторного средства при воздействии низкодозового ионизирующего излучения.

Целью работы явилось исследование содержания основных нейромедиаторов в гипоталамусе мышей C57Bl/6 при воздействии многократного рентгеновского облучения в малых дозах, совмещенного с приемом облученной и необлученной спирулины.

Исследования выполнены на самцах мышей линии C57Bl/6 в возрасте 2 мес. на начало эксперимента. Все животные были разделены пять групп: 1. Контроль; 2. Животные с введением в диету биомассы необлученной водоросли (300мг/кг веса); 3. Животные с введением в диету биомассы облученной водоросли (300мг/кг веса); 4. Животные, облученные в суммарной дозе 5,4 Гр; 5. Животные, облученные в суммарной дозе 5,4 Гр с введением в диету биомассы необлученной водоросли; 6. Животные, облученные в суммарной дозе 5,4 Гр с введением в диету биомассы облученной водоросли. Хроническое (фракционированное) низкодозовое облучение (фракции по 30 сГр/день, мощность дозы 0,3 сГр/мин, на протяжении 18 дней, суммарная доза – 5,4Гр) проводили на рентгеновской установке биологического назначения X-Rad 320 Precision X-ray Inc. (напряжение на трубке 320 кВ, сила тока 12,5 мА, фильтр № 2 (1,5 мм Al, 0,25 мм Cu, 0,75 мм Sn), расстояние до объекта 50 см). Суспензию водорослей облучали на той же установке фракциями 1,0Гр в сутки с мощностью дозы 1,0 Гр/мин, на протяжении 12 дней (суммарная доза 12,0Гр).

Измерения проводились в хлорнокислых экстрактах гипоталамуса, которые в дальнейшем анализировались при помощи ион-парной жидкостной хроматографии на оборудовании системы Agilent серии 1100 (USA) с детектированием по флуоресценции. Определяли такие показатели как: Тирозин (Tyr), дофамин (DA), норадреналин (NE), гомованилиновая кислота (HVA), 5-гидрокситриптофан (5-HTP), серотонин (5-HT), 5-гидроксииндол уксусная кислота (5-HIAA).

Анализ полученных данных показал, что прием необлученной спирулины без воздействия ионизирующего излучения приводило к статистически значимому накоплению DOPA (на 26 %, при $p=0,01$) и снижению уровня Tyr (на 19 %, при $p=0,01$) в гипоталамусе необлученных животных, что можно объяснить снижением гидроксирования Tyr. Введение в рацион животных облученной (в дозе 1,0 Гр) биомассы спирулины, при отсутствии воздействия ионизирующей радиации, вызывало снижение уровня Tyr – на 24 % ($p=0,01$), что может быть обусловлено снижением его поступления в головной мозг. Изолированное воздействие рентгеновского излучения на организм приводило к изменениям в содержании нейромедиаторов дофаминергической системы, что проявлялось в увеличении содержания DA – на 68 % ($p=0,01$) и его метаболита NE – на 37 % ($p=0,01$).

В свою очередь, при анализе содержания биогенных моноаминов в группе животных, которым вводилась в диету биомасса необлученной спирулины в сочетании с воздействием фракционированного ИИ в суммарной дозе 5,4 Гр, было выявлено возрастание содержания и катаболизма DA, что может указывать на увеличение его оборота. Так, содержание DA в сравнении с контрольной группой выросло на 66 %, а продуктов его катаболизма NE и HVA на 28 % ($p=0,01$) и 76 % ($p=0,01$) соответственно. Тогда как, как в серотонинергической системе отмечено падение содержания и катаболизма основного нейромедиатора – 5-HT, на что указывает статистически значимое снижение его содержания на 66 % ($p=0,01$) и продукта его катаболизма 5-HIAA – на 46 % ($p=0,01$).

При введении в рацион питания облученной спирулины животным, подвергнутым фракционированному воздействию ИИ в суммарной дозе 5,4 Гр, не выявлено роста общего катаболизма DA по пути HVA, однако установлено повышенное его содержания

на 61 % ($p=0,01$) и его катаболита NE на 36 % ($p=0,01$) соответственно. У данной группы животных при анализе данных о содержании моноаминов серотонинергической системы гипоталамуса отмечено снижение уровня и катаболизма 5-НТ, что отразилось в снижении 5-НТ на 65 % ($p=0,01$) и его катаболита 5-Н1АА на 52 % ($p=0,01$).

Исходя из полученных данных можно сделать заключение о том, что несмотря на показанные, в большом числе опубликованных работ, положительные качества перорального применения биомассы сине-зеленых водорослей *Arthrospira platensis*, например, как антиоксиданта, гипогликемического, гиполипидемического и противовоспалительного средства, тем не менее, принимать её следует с определенной осторожностью.

Несмотря на доказанные радиопротекторные свойства биомассы сине-зеленых водорослей её употребление не вызывает явного нейропротекторного эффекта у организма, подвергнутого хроническому (фракционированному по 30 сГр/день, мощность дозы 0,3 сГр/мин, на протяжении 18 дней, суммарная доза – 5,4Гр) облучению. Установленные значительные колебания уровней нейромедиаторов их предшественников и производных в гипоталамусе облученного организма могут сказаться на выработке тропных гормонов и, как следствие, привести к нарушению нейроэндокринной регуляции функций организма.

ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СОРБЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ УСТАНОВЛЕНИЯ ФАКТА ПОРАЖЕНИЯ РАДИОНУКЛИДАМИ ЛИЧНОГО СОСТАВА ВС РФ

М.А. Юдин, А.М. Свентицкая, А.В. Аксенов

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины»
Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия
e-mail: gniiivm_4@mil.ru

Резюме. В настоящее время существует необходимость обнаружения воздействия ионизирующего излучения на организм человека в результате инкорпорации радионуклидов. Универсальный способ сохранения биопробы до момента аналитического контроля заключается в нанесении жидких образцов на специальный впитывающий носитель, с последующим высушиванием. Оптимальный метод подтверждения поражения радионуклидами – использование сорбционной подложки с ее последующим элементным анализом.

Ключевые слова: радионуклиды, радиоактивные изотопы, биообразцы, сорбционные материалы, масс-спектрометрия

POSSIBILITY OF USING SORPTION MATERIALS TO ESTABLISH THE FACT OF INJURY BY RADIONUCLIDES TO PERSONNEL OF THE ARMED FORCES OF THE RUSSIAN FEDERATION

M.A. Yudin, A.M. Sventitskaya, A.V. Aksenov

Federal State Budgetary Institution «State Scientific Research Test Institute of military medicine», Ministry of Defense of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia
e-mail: gniiivm_4@mil.ru

Summary. Currently, there is a need to detect the effects of ionizing radiation on the human body as a result of the incorporation of radionuclides. A universal way to preserve a biosample until analytical control is to apply liquid samples to a special absorbent carrier, followed by drying. The optimal method for confirming radionuclide damage is the use of a sorption substrate with its subsequent elemental analysis.

Key words: radionuclides, radioactive isotopes, biospecimens, sorption materials, mass spectrometry

В настоящее время в сложившейся геополитической обстановке возрос риск поражения личного состава ВС РФ продуктами распада радиоактивных элементов, а также ионизирующим излучением различных типов (α -частицы, β -частицы, γ -излучение, поток нейтронов). Помимо поражения непосредственно в момент выброса радиоактивных материалов (вследствие катастроф техногенного характера, ядерных испытаний и взрывов) опасность представляют радионуклиды, попадающие в окружающую среду и в дальнейшем через легкие и пищеварительный тракт в различные органы и ткани человеческого организма. Наиболее опасными изотопами, образующимися в значительных количествах при техногенных катастрофах, а также при ядерных взрывах, являются ^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{131}I . Данные изотопы обладают сравнительно небольшими периодами полураспада (30 лет, 28,9 года, 8,04 суток соответственно), что приводит к значительному радиационному воздействию на окружающую среду и живые организмы. ^{137}Cs интенсивно сорбируется почвой и донными отложениями, в организме накапливается главным образом в мышцах и печени. ^{90}Sr откладывается в костях, облучая костную ткань и костный мозг. ^{131}I , ввиду относительно высокой летучести, способен быстро распространяться в окружающей среде, в организме человека концентрируется преимущественно в щитовидной железе. Еще одним источником загрязнения являются

радионуклиды наведенной активности, образующиеся в результате захвата нейтронов различными элементами, входящими в состав конструкции боеприпаса или реактора, грунта, воды и других элементов, окружающих место катастрофы. Наибольшее внимание из радиоизотопов наведенной активности привлекают ^{24}Na , ^{42}K , ^{14}C , ^3H . Также опасность представляют нераспавшиеся компоненты ядерного топлива (^{235}U , ^{239}Pu). Следует отметить, что изотопы ^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{131}I , ^{24}Na , ^{42}K , ^3H не встречаются в природе, а следовательно, их присутствие в организме может являться свидетельством факта радиационного поражения.

Исследования, проводившиеся в Японии среди людей, пострадавших от атомных бомбардировок, показали, что воздействие ионизирующего излучения, в том числе по причине инкорпорации радионуклидов, приводит к повышению риска развития лейкемии [1], раковых опухолей [2], а также нераковых заболеваний (инсульт [3, 4], хронические почечные заболевания [5, 6], болезни дыхательных путей [7]). Таким образом, существует необходимость обнаружения фактов воздействия ионизирующего излучения в результате попадания радионуклидов в организм человека.

Исследование биологических материалов (кровь, моча, слюна, содержимое мокроты и раневого отделяемого) на наличие в них радиоактивных изотопов в полевых условиях далеко не всегда представляется возможным, и требует транспортировку образцов до экспертных организаций. Метод отбора, хранения и транспортировки, заключающийся в нанесении жидких образцов на специальный впитывающий носитель, и последующее высушивание является универсальным способом сохранения биопробы до момента аналитического контроля. Особым преимуществом данного метода является возможность хранения образцов без соблюдения требований хладовой цепи при более высокой температуре, что было показано не только в отношении изотопов, но и малых молекул, а также фрагментов последовательностей amino- и нуклеиновых кислот. Исследование элементного и изотопного состава полученных биообразцов (крови, мочи, слюны, мокроты и раневого отделяемого) целесообразно проводить с использованием метода масс-спектрометрии высокого разрешения с индуктивно связанной плазмой, являющегося на сегодняшний день наиболее универсальным, экспрессным и чувствительным методом элементного анализа.

В ходе выполненных исследований образцов биологических материалов (кровь, моча) с использованием укладки, разработанной для отбора, хранения и транспортировки биопроб, показана возможность применения сочетания сорбционных материалов на основе целлюлозы и масс-спектрометрии высокого разрешения с индуктивно связанной плазмой для определения радиоактивных изотопов в образцах биологических материалов (кровь, моча). В качестве метода подтверждения поражения радионуклидами представляется последовательное использование сорбционной подложки и ее элементный анализ с использованием сканирующего электронного микроскопа EM 8000 (КУКУ, Китай).

1. Richardson, D. Ionizing radiation and leukemia mortality among Japanese atomic bomb survivors, 1950–2000 / D. Richardson, H. Sugiyama, N. Nishi et al. // *Radiat. Res.* – 2009. – № 172. – P. 368–382.
2. Ozasa, K. Studies of the mortality of atomic bomb survivors, 1950–2003: an overview of cancer and noncancer diseases / K. Ozasa, Y. Shimizu, A. Suyama et al. // *Radiat. Res.* – 2012. – № 177. – P. 229–243.
3. Shimizu, Y. Radiation exposure and circulatory disease risk: Hiroshima and Nagasaki atomic bomb survivor data, 1950–2003 / Y. Shimizu, K. Kodama, N. Nishi et al. // *BMJ.* – 2010. – № 340.
4. Takahashi, I. A prospective follow-up study of the association of radiation exposure with fatal and non-fatal stroke among atomic bomb survivors in Hiroshima and Nagasaki (1980–2003) / I. Takahashi, R.D. Abbott, T. Ohshita et al. // *BMJ.* – 2012. – № 2.

5. Adams, M.J. Radiation dose associated with renal failure mortality: a potential pathway to partially explain increased cardiovascular disease mortality observed after whole-body irradiation. / M.J. Adams, E.J. Grant, K. Kodama et al. // Radiat. Res. – 2012. – № 177. – P. 220–228.
6. Sera, N. The association between chronic kidney disease and cardiovascular disease risk factors in atomic bomb survivors / N. Sera, A. Hida, M. Imaizumi, E. Nakashima et al.// – Radiat. Res. – 2013. – № 179. – P. 46–52.
7. Pham, T.-M. Radiation exposure and the risk of mortality from noncancer respiratory diseases in the life span study, 1950–2005 / T.-M. Pham, R. Sakata, E.J. Grant et al.// Radiat. Res. – 2013. – № 180. – P. 539–545.

**СУПЕРОКСИДИСМУТАЗА СНИЖАЕТ СТЕПЕНЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ
ДЕСТРУКЦИИ РЕТИНОИДОВ В КЛЕТКАХ СЕТЧАТКИ И РЕТИНАЛЬНОГО
ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ ГЛАЗА МЫШИ ПРИ ДЕЙСТВИИ
ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ**

М.А. Яковлева¹, Д.М. Утина², Т.Б. Фельдман^{1,3}, М.А. Островский^{1,2,3}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия

² Лаборатория радиационной биологии Объединенного института ядерных исследований, Дубна, Московская обл., Россия

³ МГУ им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия
E-mail: lina.invers@gmail.com

Резюме. Было исследовано защитное влияние супероксиддисмутазы (СОД) как сильного антиоксиданта при действии ионизирующего излучения (ИИ) (ускоренные протоны) на глаз мыши. Ранее нами было показано, что ИИ (ускоренные протоны) вызывают окисление и деструкцию ретиноидов в сетчатке и ретиальном пигментном эпителии (РПЭ) глаза мыши. Эти изменения аналогичны тем, которые происходят при фотоокислении ретиноидов. В настоящей работе было исследовано влияние СОД на степень окисления и деструкции ретиноидов в сетчатке и РПЭ глаза мыши после воздействия ИИ. Было показано, что СОД значительно снижает степень окисления и деструкции флорофоров в сетчатке и РПЭ глаза облученных мышей. Полученные данные могут быть важны для профилактики повреждающего действия ИИ на структуры глаза.

Ключевые слова: супероксиддисмутазы, протонное излучение, ретиноиды, сетчатка, ретиальный пигментный эпителий

**SUPEROXIDE DISMUTASE REDUCES THE DEGREE OF OXIDATIVE
DESTRUCTION OF RETINOIDS IN THE CELLS OF THE RETINA AND RETINAL
PIGMENT EPITHELIUM OF THE MOUSE EYE UNDER THE INFLUENCE OF
IONIZING RADIATION**

M.A. Yakovleva¹, D.M. Utina², T.B. Feldman^{1,3}, M.A. Ostrovsky^{1,2,3}

¹ Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia,

² Laboratory of Radiation Biology, Joint Institute for Nuclear Research, Dubna, Moscow region, Russia

³ Department of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia
E-mail: lina.invers@gmail.com

Summary. The protective effect of superoxide dismutase (SOD) as a strong antioxidant under the influence of ionizing radiation (IR) (accelerated protons) on the mouse eye was studied. We have previously shown that IR (accelerated protons) cause oxidation and destruction of retinoids in the retina and retinal pigment epithelium (RPE) of the mouse eye. These changes are similar to those that occur during photo-oxidation of retinoids. In this work, we investigated the effect of SOD on the degree of oxidation and destruction of retinoids in the retina and RPE of the mouse eye after exposure to IS. It has been shown that SOD significantly reduces the degree of oxidation and destruction of fluorophores in the retina and RPE of the eyes of irradiated mice. The data obtained may be important for preventing the damaging effects of AI on eye structures.

Key words: superoxide dismutase, proton radiation, retinoids, retina, retinal pigment epithelium

В сетчатке и ретиальном пигментном эпителии (РПЭ) глаза с возрастом и особенно интенсивно при заболеваниях глаза накапливаются бисретиноидные флуорофоры (Бис-рет). Наиболее изученный из них это А2Е – основной флуорофор липофусциновых гранул (ЛГ) [1]. Эти соединения способны фотоокисляться и при дальнейшей деструкции образуют альдегиды и кетоны [2]. Эти соединения способны

покидать ЛГ и переходить в цитоплазму клетки, где уже в темноте способны повреждать структуры клетки [3]. Ранее мы показали, что ускоренные протоны (ИИ) вызывают окисление и деструкцию флуорофоров липофусциновых гранул в сетчатке и РПЭ глаза мыши [4]. Предполагается, что воздействие ИИ на глаз мыши приводит к радиационному окислению ретиноидов. При этом пролонгированный эффект ИИ демонстрирует дальнейшие изменения в составе Бис-рет. Таким образом, ИИ инициирует запуск механизмов, приводящих с течением времени к окислительному стрессу. Эти изменения близки к тем, которые происходят при фотоокислении ЛГ под влиянием света [5]. Мы предположили, что запускается кислородный стресс, приводящий к окислению флуорофоров ЛГ. Таким образом, окисление ЛГ - это фактор риска развития дегенеративных заболеваний сетчатки глаза. Поэтому изучение способов снижения рисков влияния ИИ на флуорофоры ЛГ является важной задачей. Известно, что супероксиддисмутаза (СОД) является сильным антиоксидантом [6], присутствующим в организме. СОД применяют как радиопротектор у мышей [7]. Поэтому в данной работе мы выбрали СОД, вводя мышам до и после воздействия ИИ, чтобы оценить возможный защитный эффект. Целью данной работы было изучение защитного влияния СОД при воздействии ионизирующего излучения (ИИ) на глаз мыши.

Материалы и методы.

Для экспериментов использовали мышей-самцов, гибридов первого поколения C57BL/6×CBA в возрасте 6 месяцев, средней массой 31 г. Животные приобретены в филиале питомника лабораторных животных Института биорганической химии им. Шемякина-Овчинникова РАН. Головы мышей облучались ускоренными протонами в дозе 2 Гр с использованием медицинского фазотрона Объединенного института ядерных исследований (ОИЯИ, Московская область, г. Дубна). За 20 минут до облучения группе животных внутрибрюшинно вводилась либо СОД (0,03 мг/0,5 мл физиологического раствора), либо 0,5 мл физиологического раствора (ФР). Через сутки после облучения был произведен забой животных методом цервикальной дислокации, с последующим изъятием глаз, из которых затем извлекали отдельно сетчатку и РПЭ. Все эксперименты проводились в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ МЗ СССР №755 от 12.08.1977 г.). Хроматографическое разделение Бис-Рет проводили на хроматографе фирмы «Knaue» (Германия) с колонкой «Диасфер 120 С18» (4x250 мм, размер сорбента 5 мкм), как описано ранее в [4]. Спектры флуоресценции регистрировали на спектрофлуориметре Shimadzu RF-5301PC (“Shimadzu”, Япония).

Результаты.

Изучен эффект после воздействия ИИ (ускоренных протонов в дозе 2 Гр) на динамику изменения относительного содержания Бис-рет и продуктов их окисления в отсутствие и при введении мышам СОД. Сравнительный флуоресцентный и ВЭЖХ анализ Бис-рет проводили до и после облучения животных. Флуоресцентные характеристики хлороформных экстрактов сетчатки и РПЭ облученных мышей показали увеличение интенсивности флуоресценции в коротковолновой области спектра ($\lambda < 550$ нм). Методом ВЭЖХ-анализа показана динамика изменения относительного содержания Бис-рет и их окисленных форм. На рисунке 1 А приведены характерные хроматограммы ретиноидов в сетчатке и РПЭ. На гистограммах на рисунке 1Б приведено распределение относительного содержания ретиноидов в сетчатке и РПЭ после воздействия ИИ и введения СОД на основании хроматографических данных. Было показано, что происходит увеличение содержания продуктов окисления и дегградации Бис-рет (группа пиков 1 и 2 на хроматограмме рис. 1А и на гистограмме на рис. 1Б) в сетчатке и РПЭ после воздействия ИИ. Однако, введение мышам СОД перед воздействием ИИ значительно снижало процесс окисления Бис-рет в этих тканях (рис. 1 Б, группа пиков 1 и 2). Красные пики на гистограмме рис. 1Б окисленных Бис-рет группы 2 при 2Гр нарастают, а добавление СОД снижает это нарастание (синие пики на гистограмме рис 1Б).

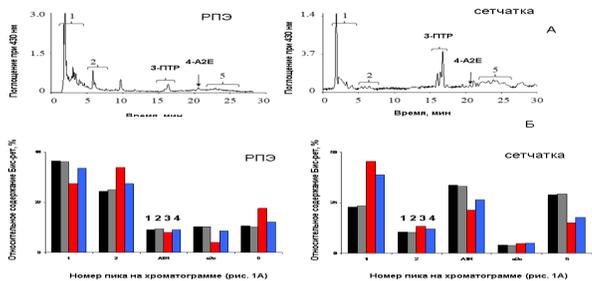


Рисунок 1. А - Характерная хроматограмма сетчатки и РПЭ. Группа пиков 1 и 2 - продукты окислительной деструкции Бис-рет [3], 3-ПТР - полностью-*транс*-ретиноаль [5], 4 - А2Е [5], 5 - другие Бис-рет [3]. Б - Диаграммы относительного содержания различных Бис-рет и их производных в хлороформных экстрактах сетчатки и РПЭ глаз мышей при и без воздействия ускоренных протонов в дозах 2 Гр. А также влияние введения СОД мышам до воздействия ИИ. Номера пиков по оси абсцисс соответствуют номерам пиков на хроматограмме рис 1А. 1 - контроль, 2 - контроль+СОД, 3 - облучение 2 Гр, 3 - облучение 2 Гр+СОД.

Полученные данные подтверждают наше предположение о том, что протоны вызывают окислительный стресс, который и приводит к окислению Бис-рет как в сетчатке, так и в РПЭ. При этом, СОД значительно снижает окисление и деструкцию Бис-рет в сетчатке и РПЭ глаза мыши при воздействии ИИ. Эти данные важны как для разработки программ радиозащиты космонавтов в ходе полетов, так и в медицине для защиты здоровых тканей при осуществлении протонной терапии онкологических заболеваний.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект №. 122041400102-9), а также при поддержке Программы развития Московского государственного университета (проект № 23-Ш06-20).

Список литературы.

1. Kennedy, A.R. Life Sci Space Res (Amst), 2014, 1, 10-43.
2. M.A. Yakovleva, A.E. Dontsov, N.N. Trofimova, N.L. Sakina, A.S. Kononikhin, A.V. Aybush, T.B. Feldman, M.A. Ostrovsky. Int. J. Mol. Sci., 2022, 23(1), 222.
3. Feldman, T.; Ostrovskiy, D.; Yakovleva, M.; Dontsov, A.; Borzenok, S.; Ostrovsky, M. Int. J. Mol. Sci., 2022, 23(20), 12234.
4. Yakovleva M.A.; Feldman T.B., Lyakhova K.N., Utina D.M., Kolesnikova I.A., Vinogradova, Y.V. Molokanov A.G. Ostrovsky M.A. Radiat Res, 2022, 197, 270-279.
5. T. Feldman, M. Yakovleva, D. Utina, M. Ostrovsky. Int. J. Mol. Sci., 2023, 24, 17049.
6. H. Younus. Int J Health Sci, 2018, 12(3): 88–93.
7. X W Mao 1, J D Crapo, T Mekonnen, N Lindsey, P Martinez, D S Gridley, J M Slater. Curr Eye Res, 2009, 34(1), 62-72.

Научное издание

**АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ РАДИАЦИОННОЙ БИОЛОГИИ.
МОДИФИКАЦИЯ РАДИАЦИОННО-
ИНДУЦИРОВАННЫХ ЭФФЕКТОВ**

Международная конференция

Материалы конференции

2024-41

Ответственный за подготовку сборника к печати *И. В. Кошлань*

Отпечатано с файлов, предоставленных оргкомитетом

Подписано в печать 08.10.2024.

Формат 60×90/16. Бумага офсетная. Печать цифровая.

Усл. печ. л. 15,5. Уч.-изд. л. 25,82. Тираж 135 экз. Заказ № 60934

Издательский отдел Объединенного института ядерных исследований
141980, г. Дубна, Московская обл., ул. Жолио-Кюри, 6.

E-mail: publish@jinr.ru

www.jinr.ru/publish/