

КАБІНЕТ МІНІСТРІВ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

СЕНЮК ОЛЬГА ФЕДОРІВНА

УДК 614.876:612.048:631.039

**РАДІОБІОЛОГІЧНІ ЕФЕКТИ В ОРГАНІЗМІ І ПРИНЦИПИ ЙОГО
ЗАХИСТУ ВІД НЕГАТИВНИХ НАСЛІДКІВ ІОНІЗУЮЧОГО
ОПРОМІНЕННЯ**

03.00.01 – радіобіологія

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора біологічних наук

Київ – 2015

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Інституті проблем безпеки атомних електростанцій
Національної академії наук України

Науковий консультант доктор біологічних наук, професор,
академік НАН України
Гродзинський Дмитро Михайлович,
Інститут клітинної біології і генетичної
інженерії НАН України,
завідувач відділу біофізики і радіобіології

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук
Дружина Микола Олександрович,
Інститут експериментальної патології, онкології і
радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України,
провідний науковий співробітник відділу
радіобіології і екології

доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник
Лавренчук Галина Йосипівна
ДУ «Національний науковий центр радіаційної
медицини НАМН України»,
завідувач лабораторії клітинної радіобіології
Інституту експериментальної радіології

доктор біологічних наук, професор
Цудзевич Борис Олександрович,
Київський національний університет
імені Тараса Шевченка,
професор кафедри біохімії ННЦ «Інститут біології»

Захист відбудеться «4» чевня 2015 року о 10-00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.004.19 у Національному університеті біоресурсів і природокористування України за адресою: 03041, м. Київ, вул. Генерала Родімцева, 19, навчальний корпус № 1, кімната 97.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного університету біоресурсів і природокористування України за адресою: 03041, м. Київ-, вул. Героїв Оборони, 13, навчальний корпус № 4, кімната 41а
Автореферат розісланий «30» квітня 2015 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради

М. М. Лазарєв

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Лише в Україні, Республіці Білорусь та Російській Федерації у перші роки після Чорнобильської катастрофи кількість людей, постраждалих від викидів радіонуклідів, коливалась від 7,4 до 9,4 млн осіб (Яблоков А. В. и др., 2011).

Променеві ураження характеризуються різноманітністю форм. Широкого розповсюдження набули хронічні патології, променеві реакції і стохастичні прояви радіаційних уражень (Артамонова В. Г., Мухин Н. А., 2004). Головний підсумок вивчення захворюваності у опромінених в зв'язку з Чорнобильською катастрофою осіб свідчить про зростання частоти непухлинних захворювань. Виявлено залежність відносних ризиків їх розвитку від величин доз зовнішнього опромінення (Пирогова О. Я. та ін., 2010; Report Health effect of Chernobyl, 2011). Серед учасників ліквідації наслідків цієї катастрофи стрімко зросла смертність, яка перевищує очікувану за віком у популяції (Омельянець М. І. та ін., 2005). Отже, існує нагальна необхідність пошуку шляхів протидії шкідливим наслідкам для здоров'я і життя людини хронічного впливу іонізуючої радіації в малих дозах низької інтенсивності. Водночас, обговорюються і позитивні ефекти дії радіації в малих дозах та малих кількостях інкорпорованих радіонуклідів на ссавців, у тому числі і на здоров'я людини (Булдаков Л. А., Калистратова В. С., 2003; Биол. и эпидемиол. эффекты, 2003; Петин В. Г., Пронкевич М. Д., 2013).

Для створення концепції захисту людини від негативних наслідків хронічного радіаційного опромінення необхідні поглиблені дослідження радіобіологічних ефектів на різних рівнях організації організму і механізмів, що їх зумовлюють. Особливість дії на живі організми іонізуючих випромінювань в малих дозах низької інтенсивності характеризується бімодальною нелінійною залежністю «доза-ефект», що переважно опосередковується через систему регуляції антиоксидантного та імунного статусів організму (Бурлакова Е. Б. и др., 1996). Висока неоднорідність людської популяції щодо чутливості до радіаційного впливу: від 14 до 20 % радіорезистентних осіб, 10–20 % осіб з підвищеною радіочутливістю і 7–10 % надзвичайно чутливих до радіації осіб (Kovalev E. E., Smirnova O. A., 1996), унеможливує встановлення порогу дози для виникнення детерміністичних ефектів. При розробці засобів та заходів захисту від радіаційного впливу слід враховувати особливості дії випромінювань в малих дозах, а також вищі значення індивідуальної уражуючої дози радіації для осіб з підвищеною радіочутливістю.

Отже, робота над створенням захисту організму людини від впливу іонізуючої радіації в малих дозах низької інтенсивності є виправданою і доцільною. На сьогодні ще не досягнуто достатнього розуміння процесів, які зумовлюють інтеграцію первинних молекулярних ушкоджень у кінцеву реакцію-відповідь цілісного організму людини (Гродзинський Д. М., 2000; Кутлахмедов Ю. О. та ін., 2011). Особливо актуальним є вивчення механізмів радіаційного впливу за умов гострої та хронічної експозиції, а також зовнішнього і внутрішнього опромінення.

Радіаційні ефекти в організмі досліджували, виходячи з таких положень:

- 1) прояв радіаційних ефектів має місце на всіх рівнях організації організму;
- 2) відповідь організму на гостре і хронічне опромінення має певні особливості;
- 3) популяція людей є неоднорідною за чутливістю її індивідів до дії радіації;
- 4) захист організму людини від радіації в малих дозах низької інтенсивності спрямований на попередження розвитку віддалених стохастичних ефектів.
- 5) використання захисних засобів базується на критеріях ефективності сорбційної, антиоксидантної, генопротекторної, антиканцерогенної, імуномодулюючої дії захисних чинників.

Виконання окреслених досліджень поглибить уявлення стосовно патогенезу стохастичних непухлинних захворювань, а відтак і про методи та засоби протидії негативним медико-біологічним наслідкам хронічного впливу іонізуючих випромінювань, для зменшення прояву яких не можуть бути використані класичні радіопротектори, що призводять до токсичних ускладнень, і час застосування яких прив'язаний до моменту дії радіаційного чинника. З огляду на наявність у біополімерів з *Aphyllophorales* (трутові гриби) – хітину, β -глюканів і меланінів, здатності сорбувати широкий спектр радіонуклідів, антиоксидантної та ДНК-захисної, імуномодельючої та антисептичної дії, їх можна вважати перспективними натуральними речовинами з захисною дією.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана відповідно до планів наукових досліджень Інституту проблем безпеки атомних електростанцій НАН України, які здійснювались в рамках державних програм: «Оцінка радіоекологічних ризиків при виконанні радіаційно небезпечних робіт на ОУ та розробка захисту персоналу об'єкту «Укриття» від радіаційних ризиків при виконанні робіт по перетворенню об'єкту «Укриття» в екологічно безпечну систему» (№ д/р 0101U002572, 2002–2004 рр.); господарських угод з ВО ЧАЕС «Вивчення сукупних ефектів інтенсивних радіаційних полів і дискомфортних умов праці в об'єкті «Укриття» на показники периферичної крові» (№ д/р 00195U0167, 1999 р.); «Захист імунного гомеостазу персоналу, що працює в умовах інтенсивних радіаційних полів на об'єкті «Укриття» (№ д/р 0196U0036, 1999 р.). Частина досліджень підтримана білатеральним грантом з Університетом м. Майнз (Німеччина) «Радіаційні ефекти «горячих» частинок з ядерного палива на ДНК клітин людини та засоби захисту» (№ 39384 2005 р.), грантом рамкової програми INCO Copernikus Contract ICA2-CT-2000-10047 (ENVRAD) «Long-term effects of damage in persons exposed to a radioactively contaminated environment (acronym: ENVRAD)».

Мета і завдання дослідження. Мета роботи полягала у розробці науково-методичних основ захисту організму ссавців від гострого і хронічного радіаційного впливу, зовнішнього і внутрішнього опромінення, залежно від генетично обумовленої чутливості до опромінення, та дослідженні захисної здатності комплексів з грибних біополімерів (хітину, β -глюканів і меланінів).

Виконання роботи передбачало вирішення таких завдань:

1. Розробити методичні підходи для дослідження проявів радіобіологічних ефектів в організмі ссавців від молекулярно-генетичного до рівня цілісної системи за умов гострого та хронічного зовнішнього опромінення, інкорпорації ^{137}Cs , у лінійних мишей з альтернативною генетично обумовленою радіочутливістю (BALB/c і C57BL/6), а також у професійно опромінюваних осіб (персоналу об'єкту «Укриття», Державного спеціалізованого підприємства «Комплекс» (ДСП «Комплекс»), Виробничого об'єднання «Рівненська АЕС» (ВО «РАЕС») та само-поселенців Зони відчуження і безумовного (обов'язкового) відселення (ЗВіБ(о)В).

2. Дослідити формування додаткових однострункових розривів ДНК, зміни її нативності, репараційних процесів та можливість появу «ефекта свідка» за впливу різних моделей опромінення та залежно від величин накопичених доз.

3. Дослідити репопуляційне відновлення тканин за дії іонізуючих випромінювань на прикладі кісткового мозку інбредних мишей.

4. З'ясувати характер пострадіаційних порушень у відповіді імунної, репродуктивної і нервової систем та тривалості життя (у лінійних мишей), а також адаптаційні реакції на рівні цілісного організму.

5. Вивчити механізми захисного ефекту грибних біополімерів (хітину, меланінів і β -глюканів), опираючись на результати досліджень, проведених на різних рівнях організації організму – від молекулярно-генетичного до системного, а саме:

- дослідити вплив біополімерів з трутовиків на ДНК-тропні ефекти радіації;
- оцінити формування однострункових розривів ДНК, зміни нативності ДНК, індукцію «ефекту свідка», ушкодження репарації ДНК;

- з'ясувати вплив грибних біополімерів на формування радіаційних ушкоджень репопуляційного відновлення тканин на прикладі кісткового мозку лінійних мишей;

- оцінити вплив біополімерів (хітину, β -глюканів і меланінів) на радіаційно-індуковані порушення імунної, репродуктивної і нервової систем та тривалості життя лінійних мишей, а також на адаптаційні реакції цілісного організму.

Об'єкт дослідження. Формування радіаційних ушкоджень організму ссавців за умов гострого і хронічного впливу, зовнішнього і внутрішнього опромінення та добір засобів захисту.

Предмет дослідження. Структурні зміни в ДНК клітин різного генезу, отриманих від опромінених лінійних мишей з різним рівнем генетично обумовленої радіочутливості, та клітин людей, які професійно опромінювались чи постійно проживали на території ЗВіБ(о)В; радіаційно-індуковані порушення імунної, репродуктивної і нервової систем тваринного організму; антиоксидантна, сорбуюча, ДНК-захисна, протипухлинна, антиінфекційна активності субстратів з грибних біополімерів (хітину, β -глюканів і меланінів).

Методи дослідження. Радіобіологічні (створено моделі для вивчення хронічного впливу іонізуючого випромінювання), дозиметричні (γ -спектрометрія, іонообмінна хроматографія, прижиттєве визначення активності в тілах опромінених лінійних мишей), фізико-хімічні (сорбційна здатність хітин-меланін-

глюканового комплексу стосовно радіонуклідів і важких металів *in vitro* та *in vivo*), молекулярно-біологічні (визначення одониткових розривів ДНК (ОНР ДНК); виділення комплексу мембранних білків з гепатоцитів, електрофорез ДНК фага- λ), біохімічні (афінна хроматографія, антиоксидантна активність), імунологічні (імуноелектрофорез печінково-специфічного ліпопротеїну (ПСЛ), імуноблотинг, імуноферментний аналіз), цитологічні (колонієутворення стовбуровими клітинами кісткового мозку, морфологічні показники клітин крові), патоморфологічні, мікробіологічні (дифузійний метод з використанням антибіотиків на культурах еталонних штамів мікроорганізмів, модель інфекційного ураження шлунково-кишкового тракту щурів Wistar), клініко-лабораторний аналіз обстежених осіб (огляд, збирання анамнезу, загальний аналіз крові, імунограма), фізіологічні (визначення тривалості життя та дослідження поведінкових реакцій мишей), статистична обробка отриманих результатів.

Наукова новизна одержаних результатів. Отримано нові експериментальні дані, розроблено науково та експериментально обґрунтовано концепцію, а також основні принципи захисту організму від негативних наслідків хронічного радіаційного опромінення на основі поглибленого дослідження та аналізу шляхів реалізації тривалої дії радіації від молекулярно-генетичного і клітинного до організменного рівнів у модельних дослідах на лінійних мишах з різним проявом генетично обумовленої радіочутливості.

Уперше дослідження радіобіологічних ефектів у людей на рівні нейро-імуно-ендокринної регуляції виконано згідно із запатентованою методикою «Спосіб визначення стану макроорганізму» (Пат. 94311486 Україна, GO1N33/53). Сформульовано принципи радіаційного захисту від негативного впливу хронічного опромінення в малих дозах.

Уперше досліджено дистанційний вплив клітин як зовнішньо, так і внутрішньо хронічно опромінених лінійних мишей на неопромінені клітини, який виявлявся у зростанні одониткових розривів ДНК клітин різного генезу.

Уперше оцінено радіаційний вплив гострого і хронічного опромінення на поведінкові реакції мишей, які відрізняються за генетично обумовленою радіочутливістю, з використанням хрестоподібного припіднятого лабіринту.

Уперше здійснено різнопланове дослідження біологічної активності природних біополімерів грибного походження – меланінів, β -глюканів, хітину, і показано здатність їх комплексів протидіяти депонуванню радіонуклідів у організмі людини і лінійних мишей; нормалізувати окисний метаболізм, структуру клітинної ДНК та репараційні процеси, протидіяти розвитку аутоімунного ураження і онкохвороби за умов хронічного опромінення; чинити неспецифічну антисептичну дію без ознак інтоксикації; продовжувати тривалість життя тварин, збільшувати їх плодовитість та нормалізувати поведінкові реакції.

На основі отриманих даних сформульовано закономірності адаптації до радіаційного впливу, яка базується на протидії радіаційним ушкодженням на різних рівнях організації організму. Висунуто та експериментально підтверджено концепцію захисту від негативних наслідків хронічного опромінення, яка передбачає наявність у захисних чинників сорбуючої здатності щодо широкого

спектра радіонуклідів, антиоксидантної і ДНК-захисної активності, імуномодельючої, антисептичної, анксиолітичної дії і відсутності токсичного впливу.

Практичне значення одержаних результатів. Результати проведених досліджень дозволяють рекомендувати комплекси біополімерів з *Aphyllophorales*, що містять хітин, β -глюкани і меланіни, як основу для створення нових засобів щодо вирішення проблеми радіаційного захисту організму як від зовнішнього радіаційного опромінення, так і від інкорпорованих радіонуклідів, зокрема для захисту персоналу об'єктів атомної енергетики, створення протипроменевих засобів медичного призначення, а також для розробки лікувального харчування для широких контингентів населення, яке проживає на забруднених радіонуклідами територіях. На сьогодні на основі хітин-меланін-глюканового комплексу з *Fomes fomentarius* (*F. fomentarius*, трутовик звичайний) створено засіб під назвою «Мікотон» (дозвіл Державної санітарно-гігієнічної експертизи № 7.09.2806 від 13.11.97) для використання в якості дієтичної добавки, якій одночасно притаманні функції біосорбенту, імунокоректору та антиоксиданту, що виготовляється відповідно до ТУ У 15.8-23710945-00402002 «Добавка дієтична «Мікотон» Технічні умови». Препарат є у широкому продажі в Україні.

Меланін-глюкановий комплекс з *F. fomentarius* – потужний стимулятор фітоімунітету і асептичний засіб є основою першого вітчизняного біофунгіциду «Мікосан», виготовляється відповідно до ТУ У 24.2–23710945.003–2001.

Результати дослідження стану імунної системи (Т- і В-ланки імунітету, системи неспецифічної резистентності в цілому та аутоімунітету зокрема) використовуються в курсі лекцій «Прикладна імунологія» для студентів-біологів Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

Особистий внесок здобувача. На основі аналізу даних наукової літератури обґрунтовано актуальність дослідження, розроблено методологію і програму постановки досліджень, опрацьовано методики дослідження, самостійно впроваджено методику визначення ОНР ДНК у різних видів клітин, методику оцінки поведінкових реакцій мишей у хрестоподібному припіднятому лабіринті і методику оцінки адаптаційних реакцій у опромінюваних працівників об'єкта «Укриття», ДСП «Комплекс» і ВО «РАЕС». Самостійно сплановано і виконано експериментальну частину досліджень, здійснено клініко-лабораторний аналіз обстежених осіб, оцінено результати модифікуючих ефектів комплексів біополімерів з *Aphyllophorales*, що містять хітин, β -глюкани і меланіни, сформовано комп'ютерну базу даних і здійснено їх статистичну обробку та узагальнення, теоретично обґрунтовано отримані результати.

Вивчення закономірностей сорбції іонів важких металів і радіонуклідів цезію, стронцію і трансуранових елементів на хітин-меланін-глюкановому комплексі (ХМГК) виконано спільно з доктором хімічних наук В. М. Косяковим в РНЦ «Курчатовский институт» (Російська Федерація, Москва). Антиоксидантні та антимуутагенні властивості грибних меланінів досліджено спільно з кандидатом хімічних наук В. П. Курченко на кафедрі біохімії Білоруського державного університету (Білорусь, Мінськ). Вплив меланін-глюканового комплексу з *F. fomentarius* (МГК-F) на репарацію клітин пухлинних ліній Hela і РС-12 після дії

УФ-випромінювання вивчали разом з професором Г. Х. Шрьодером в Інституті фізіологічної хімії Йоганес Гютенберзького Університету (Майнз, Німеччина). Оцінку гемопоєзу у опромінених мишей виконано спільно з доктором біологічних наук, професором Н. М. Білько в Національному університеті «Києво-Могилянська академія». Патоморфологічні дослідження виконано з В. М. Жежерою в клініці «Охмадит» м. Києва. Антисептична активність МГК-Е була досліджена на музейних штаммах мікроорганізмів з доктором медичних наук Г. В. Бекетовою в Центральній науково-дослідній лабораторії Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця, м Київ.

Автор висловлює щирю подяку за допомогу в процесі виконання і написання роботи академіку НАН України Д. М. Гродзинському, доктору фізико-математичних наук О. В Жидкову.

Апробація результатів дисертації. Результати, що увійшли до дисертації доповідались на вісьмох наукових семінарах в установах НАН України, а також на фахових українських і міжнародних наукових конференціях, з'їздах і конгресах, зокрема: 3-й і радіобіологічний з'їзд (Київ, Україна, 1993); Міжнародна конференція «Актуальні і прогнозовані порушення психічного здоров'я після ядерної катастрофи у Чорнобилі» (Україна, 1995); П'ята міжнародна конференція «Чорнобиль-96»; Міжнародна конференція «П'ятнадцять років Чорнобильської катастрофи. Досвід подолання» (Київ, Україна, 2001); 3-я Міжнародна конференція «Вплив на здоров'я Чорнобильської аварії: результати 15-річних досліджень» (Київ, Україна, 2001); 3-й і 6-й з'їзди з радіаційних досліджень (Москва, Російська Федерація, 1997, 2010); Congress of European Association of Nuclear Medicine (Barcelona, Spain, 1999); International Workshop on Medical Aspects of Disaster Management, (Hungary, Budapest, 2000); Всероссийские научные конференции Научного совета РАН по проблемам радиобиологии, 1998, 2012; International Conferences of European Chitin Society: 3rd (Potsdam, Germany, 2000), 4th (Ancona, Italy, 2002), 6th (Poznan, Poland, 2004); Науково-практична конференція «Парадигми сучасної радіобіології. Радіаційний захист персоналу об'єктів ядерної енергетики» (Київ, Чорнобиль, Україна, 2004), International congresses of Medicinal Mushrooms: 1st (Kyiv, Ukraine, 2001), 4th (Ljubljana, Sloveniya, 2007); International Medicinal Mushroom Conferences: 5th (Nantong, China, 2009), 6th (Zagreb, Croatia, 2011); Российская научная конференция «Медико-биологические проблемы противолучевой и противохимической защиты (Санкт-Петербург, Российская Федерация, 2004); Международная научно-практическая конференция «Экология человека в постчернобыльский период» (Минск, Республика Беларусь, 2004), The 35 Annual Meeting of European Radiation Research Society and the 4th Annual Meeting of the Ukrainian Society for Radiation Biology (Kyiv, Ukraine, 2006); IV Международная научно-практическая конференция Сиверск-Томск, Российская Федерация, 2007); Международная конференция «СПИД, рак и общественное здоровье» (Санкт-Петербург, Российская Федерация, 2007); Міжнародна конференція «Радіопротектори, що є ефективними при дії хронічного опромінення у малих дозах» (Миколаїв, Україна, 2008); Российская научная конференция «Актуальные проблемы токсикологии и радиобиологии»

(Санкт-Петербург, Российская Федерация, 2011); Радіобіологічні та радіо-екологічні аспекти Чорнобильської катастрофи (Славутич, Україна, 2011); 18 Congress of the International Society for Mushroom Science (Beijing, China, 2012).

Публікації. Основний зміст роботи викладено у 54 опублікованих працях. В їх числі 4 монографії, з яких 3 англійською мовою; 8 статей у наукових фахових виданнях України; 8 – у наукових виданнях інших країн, включених в наукометричні бази даних Science Index; 14 статей у інших наукових виданнях України, 2 патенти та 18 статей у матеріалах наукових конференцій.

Структура й обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду наукової літератури, матеріалів і методів дослідження, результатів власних досліджень та їх обговорення, висновків, списку використаних джерел літератури, що налічує 485 найменувань, з яких 245 – латиницею, та 2-х додатків. Основний зміст роботи викладено на 275 сторінках друкованого тексту, робота проілюстрована 103 рисунками та 23 таблицями.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Огляд наукової літератури. Проаналізовано сучасні уявлення стосовно дії радіації та інших чинників на людей, які перебувають у сфері впливу атомних електростанцій чи мешкають на забруднених радіонуклідами територіях, що породжують відхилення у стані здоров'я людей – від молекулярно-генетичних до складних інтегральних подій системного рівня організму, а в цілому викликають негативні ефекти – призводять до зростання непухлинної і пухлинної захворюваності, скорочують тривалість життя. Підкреслено, що на сьогодні для послаблення негативних явищ радіаційного впливу перспективним може бути використання біополімерів з *F. fomentarius* (хітину, β -глюканів і меланінів) як вихідних субстратів з огляду на наявність цінних для радіаційного захисту властивостей: антиоксидантної та ДНК-захисної, імуномодельючої тощо. Ці субстанції можна розглядати як основу для створення засобів попередження небажаних наслідків професійного опромінення людей, деконтамінації персоналу з наднормованими дозами інкорпорації радіонуклідів внаслідок аварії чи нещасного випадку на ядерних установках. Це сприяє вирішенню соціально значущої проблеми захисту великих контингентів людей, що проживають на радіаційно забруднених територіях. Аналіз даних наукової літератури сприяв розробці напрямів та основних завдань дисертаційної роботи.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Мишей BALB/c, C57BL/6, CC57W/Mv і ICR ліній утримували у віварії ІПБ АЕС НАН України (м. Чорнобиль) згідно з рекомендаціями Jackson Laboratory (США). Тварин-донорів біологічного матеріалу умертвляли шляхом цервікальної дислокації з дотриманням усіх рекомендацій Європейської конвенції щодо медико-біологічних досліджень.

Використовували такі моделі опромінення: 1) гостре опромінення BALB/c і C57BL/6 мишей у дозі $\sim 5,0$ Гр за 16 годин (джерело – ^{137}Cs «гарячих частинок» палива 4-го блоку ЧАЕС (ГЧ); 2) опромінення BALB/c і C57BL/6 мишей 231 добу

в дозі $\sim 0,29$ Гр (джерело – ^{137}Cs ГЧ); 4) опромінення BALB/c мишей 100 діб у дозі $\sim 0,1$ мГр (джерело – ^{137}Cs ГЧ); 5) опромінення CC57W/Mv мишей шість місяців у дозі $\sim 0,24$ Гр (джерело – ^{137}Cs ГЧ); 6) опромінення CC57W/Mv мишей 4 год у дозі $\sim 0,19$ Гр (джерело – ^{137}Cs ГЧ); 7) опромінення BALB/c мишей 8,5 хв у дозі $\sim 5,95$ Гр (джерело γ -кванти продуктів поділу ^{235}U); 8) примусова інкорпорація *per os* BALB/c і C57BL/6 мишами ^{137}Cs впродовж 74 доби до досягнення активності в тушках відповідно 20,8 і 23,9 кБк; 10) опромінення BALB/c і C57BL/6 мишей впродовж життя відповідно у дозах $\sim 0,54$ Гр і $\sim 0,72$ Гр (джерело – ^{137}Cs ГЧ).

Для дослідження впливу тривалої зовнішньої дії іонізуючих випромінювань на інbredних мишей були виготовлені спеціальні пласкі бетонні брикети за розміром дна кліток з імобілізованими ГЧ, над якими формувались рівномірні поля γ -випромінювань з потужністю експозиційної дози $52,2 \pm 1,9$ мкГр/год.

Упродовж 1996–2006 рр. було досліджено 217 зразків крові персоналу «Укриття» і 66 зразків крові робітників ДСП «Комплекс». У 77 співробітників «Укриття» накопичена доза не перевищувала 0,25 Зв, у 42 осіб вона коливалась у межах від 0,25 до 0,50 Зв, а у 56 осіб – перевищувала 0,50 Зв. Середній вік обстежених становив $48,1 \pm 7,8$ років. Доза загального зовнішнього опромінення персоналу ДСП «Комплекс» не перевищувала 0,20 Зв, середній вік становив $45,3 \pm 8,4$ роки. Крім радіації серед виробничих шкідливостей на цьому підприємстві мали місце хімічні (оксид азоту, кислоти, луги), а також фізичні (високі рівні шуму, особливий мікроклімат) чинники. Інформацію про накопичену дозу професійного опромінення отримано зі звітів служби індивідуальної дозиметрії за допомогою термолюмінісцентних дозиметрів ТЛД К 500. В окремії групі було 26 працівників реакторних цехів ВО «РАЕС» з середнім віком $41,2 \pm 6,7$ роки. Обстежено також групу із 41 самопоселенця ЗВіБ(о)В (27 жінок і 14 чоловіків), середній вік яких становив $67,3 \pm 9,7$ роки. За рік вони отримували дозу зовнішнього опромінення $\sim 1,6$ мЗв, з яких $\sim 0,7$ мЗв зумовлено природним радіаційним фоном. Встановлена НРБУ-97/Д-2000 межа ефективної дози для населення (1 мЗв/рік) була перевищена у 50 % обстежених. Контрольну групу склали 509 донорів крові (Станція переливання крові (СПК), м. Київ), 31 учень сьомих класів (І-а група здоров'я, середня школа № 37 м. Київ), 90 здорових новонароджених дітей (3-й пологовий будинок, м. Київ). Групи позитивного контролю при дослідженні сироваткових рівнів аутоантитіл до печінкового поліспецифічного ліпопротеїну (ПСЛ) були сформовані з 97 хворих на хронічні гепатити В, С і В+С (Інститут епідеміології і інфекційних захворювань АМН України ім. Л. В. Громашевського, м. Київ).

Питому активність ^{90}Sr у зразках органів дослідних мишей визначали методом іонообмінної хроматографії (спектрофотометр «Цвет-4000») на волокнистому сорбенті VS-15М (поверхнево сульфурований катіонообмінник) у середовищі етилендіамінтетраоцтової кислоти (ЕДТО). Облік вмісту радіонукліду здійснювали на низькофоновому λ -, β -лічильнику NRR-610 («Тесла», Чехія).

Питому активність ^{137}Cs в органах і тканинах мишей визначали за допомогою γ -спектрометричного комплексу, який містив напівпровідниковий детектор «EG and G ORTEC» (США) і багатоканальний аналізатор

«Nokia LP 4900 B» (Фінляндія) з програмним забезпеченням Aspect. Прижиттєве визначення активності інкорпорованого у тілах мишей ^{137}Cs виконано на аналізаторі «Nokia LP 4900 B» (Фінляндія).

Для вивчення сорбції важких металів і радіонуклідів у досліджених розчинах використали хітин-меланін-глюканові комплекси (ХГМК) з *F. fomentarius*: 1) ХГМК-Ch для сорбції важких металів і радіонуклідів; 2) ХГМК-Cs – модифікація для зв'язування радіоактивного цезію; 3) ХГМК-Sr – модифікація для сорбції радіоактивного стронцію за методикою (Косяков В. Н. і др., 1997). Радіометричні виміри здійснювали на газовому проточному лічильнику 2154-1-1М «Протока» з геометрією 2π установки «Квантулюс» з рідинним сцинтиляційним детектором («ЛКВ», Швеція) на багатоканальному γ -спектрометрі та на приладі ПСТ-100 з торцевим лічильником СЧ-35 і перехресним приладом ПСО2-2eM.

Для виведення ^{137}Cs з тіл лінійних мишей використовували ХГМК з *F. fomentarius* та *G. applanatum* у дозі 25 мг/кг маси тварин (Висновок № 808/281 від 30.07.1997 р. ЗАТ «Український НДІ харчування»), який згодовували з пшеничною кашею. Тотальну активність в тілах мишей вимірювали один раз на тиждень чи на два тижні впродовж 40 діб спостереження.

Здатність ХГМК зв'язувати токсичні метаболіти *in vitro* вивчали в пробах крові 29 хворих з нирковою недостатністю, які впродовж 16 год експонували з ХГМК в об'ємних співвідношеннях 10:1 при температурі $36,6^\circ\text{C}$ і оцінювали в них вміст токсичних метаболітів за допомогою клінічних біохімічних методів.

Антиоксидантну активність меланіну в складі меланін-глюканового комплексу (МГК) з вищих шапкових грибів (*F. fomentarius*, *G. lucidum* і *I. obliquus*) оцінювали в системі метаболічної активації бензидину шляхом пероксидазного окиснення. Для цього в реакційній суміші (0,1 М цитратно-ацетатного буферу з рН 5,5, 10^{-8} М пероксидази хрому, $5 \cdot 10^{-4}$ М субстрату і меланіну в концентраціях від 2,5 до 25 мкг/см³) відстежували накопичення продуктів окиснення бензидину за фіксацією оптичної густини поглинання на спектрофотометрі СФ-26 за довжини хвилі $\lambda=590$ нм бензидин, 655 нм (3,3',5,5'-тетраметилбензидин, ТМБД), 460 нм (3,3'-диметоксибензидин, ДМБД).

ДНК-захисну активність МГК оцінювали в системі метаболічної активації бензидину за здатністю меланіну зменшувати мутагенний ефект на ДНК фага- λ методом електрофоретичного розділення модифікованої і неушкодженої ДНК (Остерман Л. А., 1981). Дослідження антимуутагенної активності виконували у тесті Еймса (Ames B. N. et al., 1973; Mortelmans K., Zeiger E., 2000).

Показник рівнів одностранных розривів ОНР ДНК використали як критерій для оцінки структурних ушкоджень ДНК з огляду на такі обставини: 1) ОНР ДНК є одним з головних пострадіаційних структурних ушкоджень ДНК; 2) для оцінки ОНР ДНК нещодавно розроблено простий, швидкий і чутливий мікролунковий метод, який базується на розкручуванні ДНК у лужному середовищі, і придатний для одночасного дослідження великої кількості зразків крові (Mendorff-Dreikorn K. El. et al., 1999). Слід наголосити, що його використання одночасно інформує і про наявність лужнолабільних зв'язків в місцях появи апуринових і

апіримідинових сайтів, а за умов стрімкого зростання ОНР – і про одночасне збільшення кількості двониткових розривів (ДНР) ДНК. В залежності від умов опромінення клітин і типу випромінювання співвідношення між ОНР і ДНР ДНК може становити 10 □ 50 (Газиев А. И., 2011). Показник ОНР ДНК використали також для оцінки репараційних процесів, обраховуючи його повторно через три, шість і 17 год після прогрівання клітин при 42° С впродовж 15 хв. Ушкодженість ДНК виявляли за допомогою флуориметричного методу (Bradford M. M., 1977).

Можливість дистанційної передачі сигналів ураження ДНК від опромінених до інтактних клітин («ефект свідка») оцінювали за здатністю живильного середовища клітин опромінених мишей протягом 3-х годин викликати в клітинах неопромінених мишей додаткові ОНР ДНК. Для дослідження впливу на цей процес МГК з *F. fomentarius* (МГК-F) у випадку гострої дії радіації його вводили в черевну порожнину за 30 хв до опромінення по 0,25 мм³ (з концентрацією 500 мкг/см³ в 0,9 % розчину NaCl), а після експозиції тварини отримували цю субстанцію у вигляді водного розчину для пиття такої ж концентрації. За умов хронічного зовнішнього опромінення група мишей до кінця досліду отримувала ХМГК з *F. fomentarius* (ХМГК-F) з пшеничною кашею із розрахунку 25 мг/кг маси миші. При дослідженні ентеросорбції ¹³⁷Cs дослідним мишам згодовували ХМГК-F впродовж 40 діб після накопичення активності радіонукліду ~20 кБк.

Суспензії клітин з різних органів (селезінки, печінки, головного мозку) дослідних тварин, а також лімфоцити з периферичної венозної крові обстежених людей і дослідних мишей отримували шляхом центрифугування в градієнті густини гістопаку (1,076–1,078 г/дм³).

Популяційне відновлення клітин кісткового мозку вивчали з використанням методу культивування пулу клітин в дифузійних камерах (Wilko N. M, et al, 2005).

ДНК-захисну дію МГК досліджували *in vivo* на моделі опромінення клітин різного генезу – лімфоцитів, спленоцитів, гепатоцитів, гліальних клітин головного мозку, стовбурових клітин кісткового мозку, визначаючи зміни у нативності ДНК, рівнях ОНР ДНК і активності стовбурових кровотворних клітин.

Пострадіаційну втрату імунної толерантності до антигенів печінки визначали за допомогою печінково-специфічного ліпопротеїну (ПСЛ), який виділяли із гомогенату печінкової тканини BALB/c мишей та аутопсійних печінок 15 дорослих практично здорових людей згідно з рекомендаціями (McFarlane I. G. et al., 1977); чистили за допомогою афінної хроматографії на BrCN-сефарозі 4В, ідентифікували з використанням антитіл людини проти ПСЛ («Euroimmun», Німеччина). ПСЛ виявляли за електрофорезом білків у поліакриламідному гелі (ПААГ), в якості стандарту використовували суміш білкових маркерів молекулярної маси для електрофорезу («Sigma Marker Range»).

Імуноферментний аналіз (ІФА) виконували згідно з рекомендаціями (Егоров А. М. и др., 1999). Сенсibiliзацію здійснювали розчином ПСЛ (10 мкг/см³ 0,9 % розчину NaCl). У дослідженнях з мишами джерелом первинних антитіл були сироватки крові, а вторинних – кролячі антитіла, кон'юговані з пероксидазою хрому («Sigma»), проти мишачого IgG; при обстеженні людей у якості вторинних антитіл використовували кон'югат кролячих антитіл з

пероксидазою хрому («Sigma») проти IgG людини. Результати оцінювали на флуориметрі Multiskan EX («Labsystems», США) за довжини хвилі 405 нм.

Для аутоімунного ураження печінки BALB/c мишам інтраперитоніально вводили ПСЛ у повному ад'юванті Фрейнда за схемою: 1-а ін'єкція 200 мкг імуногенного матеріалу; 2-а і 3-я ін'єкції – по 100 мкг матеріалу з інтервалом 14 і 28 діб; наступні ін'єкції – щотижня впродовж шести місяців по 50 мкг матеріалу. В сироватці крові визначали рівні аутоантитіл (АуАт) до ПСЛ і активність аланін-амінотрансферази (АЛТ), а також проводили патоморфологічні дослідження.

Пряму антиінфекційну активність МГК-Ф вивчали на чистих культурах еталонних штамів мікроорганізмів: 1) бактерій – *Helicobacter Pylori* (VaccA – М.С.Т.С, з Лондонської Міжнародної Колекції), що були люб'язно надані НДІ мікробіології і епідеміології ім. Пастера, м. Санкт-Петербург; 2) вірусів – *Herpes vulgaris I* (штам ВІІІ-1, УС) з Державної колекції РАМН, і високореплікативний штам вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ-1zmb) з НДІ епідеміології і мікробіології, Республіка Білорусь; 3) мікроскопічних грибів – *Candida albicans* (ВКПГУ – 1006/869, з НДІ медичної мікології ім. П. Н. Кашкіна Санкт-Петербурзької Академії післядипломної освіти) дифузійним методом, порівнюючи ефективність МГК-Ф з традиційно уживаними препаратами.

Антиінфекційний вплив ХМГК-Ф досліджували на щурах Wistar, у яких відтворювали інфекційно-запальне ураження верхніх відділів травного тракту за допомогою інокуляції музейних штамів *H. Pylori* – 1-а дослідна група, *H. vulgaris I* та *C. albicans* – 2-а дослідна група. У кожній групі половина тварин отримувала ХМГК-Ф *per os* з розрахунку 25 мг/кг маси щоденно, а інша – терапію антибіотиками. Через одну добу, 1-й і 3-й тижні після інфікування і впродовж формування виразкового процесу (через 28, 37 і 50 діб) досліджували лейкограму і активність фагоцитів крові за показниками відновлення нітросинього тетразолію (НСТ-тесту) згідно з рекомендаціями (Park V. N. et al, 1968). Загальний стан мишей оцінювали за показниками тривожності, якості апетиту, кількістю випорожнень кишківника, температурою тіла, виглядом шерсті.

Для вивчення впливу МГК на мікробіцидну активність лейкоцитів крові визначали активність поліморфноядерних нейтрофілів (ПМЯЛ) і моноцитів *in vitro* в крові людей та *in vivo* в крові мишей за тестом відновлення НСТ.

Для дослідження впливу комплексів грибних біополімерів на інтегральні показники реакції цілісного організму у різних груп опромінених людей і дослідних мишей визначали тип адаптаційної реакції за параметрами лейкограми (Гаркаві Л. Х. и др., 1998), а також показники плодовитості BALB/c, C57BL/6 і CC57W/Mv мишей, терміни візуалізації пухлинних вузлів у ICR мишей, зміни показників тривожності у BALB/c і C57BL/6 мишей у хрестоподібному припіднятому лабіринті (ХПЛ) (Rodgers R. J., Shepherd J. K., 1993).

Для статистичного опрацювання отриманих результатів використовували середнє арифметичне значення, похибку середнього значення, медіану і моду. Тип розподілу значень показників визначали з допомогою коефіцієнтів асиметрії і ексцесу, а також квантилів 1/4 і 3/4 (Ван-дер-Варден Б., Бартел Л., 1960).

РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Опромінення викликає підвищення рівнів іонів та агресивних радикалів у всьому об'ємі опромінюваного організму з виникненням радіобіологічних ефектів на усіх рівнях його організації – від молекулярно-генетичного до організменного.

Структурні зміни в ДНК опромінених клітин лінійних мишей.

Порушення первинної структури ДНК, маркерним показником яких є ОНР, та модифікація вторинної будови, спостерігається як в результаті опромінення лінійних мишей у дозах на рівні ЛД_{50/30} (~5,0 Гр/16 год), так і за умов хронічного опромінення (~0,29 Гр/231 доба) та 74-добової інкорпорації ¹³⁷Cs з питною водою. Аналіз даних, наведених на рис. 1, свідчить про утримання достовірно більшого рівня ОНР ДНК в лімфоцитах і спленоцитах у порівнянні з показником контролю впродовж перших чотирьох тижнів після опромінення мишей обох ліній в дозі 5,0 Гр/16 год.

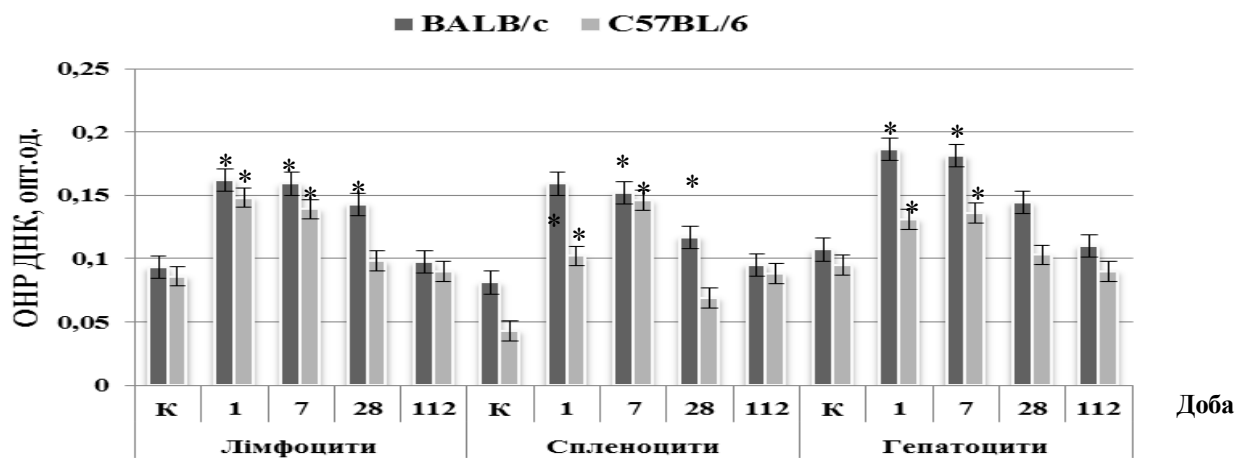


Рис. 1. Рівні одностранных разрывов ДНК у клітинах мишей BALB/c і C57BL/6 після загального зовнішнього опромінення в дозі ~ 5,0 Гр/16 год у різні терміни після експозиції – 1-у, 7-у, 28-у і 112 доби.

Примітка. * – P < 0,05 відносно контролю.

Якщо за умов опромінення в дозі 5,0 Гр/16 год рівні ОНР ДНК лімфоцитів і спленоцитів на 112-ту добу вже майже досягли контрольних величин, то за умов тривалої експозиції BALB/c мишей з накопиченням дози опромінення 0,29 Гр на кінець терміну опромінення (231 доба) ще виявлялись підвищені рівні ОНР ДНК в лімфоцитах і спленоцитах (відповідно на 16 % і 23 %), що може свідчити про меншу ефективність адаптаційних реакцій у випадку хронічного опромінення. За цих умов має місце постійне утворення надлишку O_2^{\bullet} радикалу, OH^{\bullet} радикалу у результаті вільно-радикального перетворення H_2O_2 у присутності іонів заліза, а також за рахунок розпаду NO_2 з одночасною генерацією двох ініціаторів процесу пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) – OH^{\bullet} і NO_2 (Ткаченко М. Н. и др., 2005, 2009). Тому за хронічного впливу радіації існує велика імовірність трансляції інформаційних сигналів в попередньо ушкоджений геном, носіями яких є кванти іонізуючих випромінювань (Меерсон Ф. З., 1981). За використання описаних вище моделей опромінення показано зниження нативності ДНК у клітинах різного генезу BALB/c і C57BL/6 мишей в середньому: через один місяць після

опромінення у дозі $\sim 5,0$ Гр/16 год на 8,3 %, за опромінення у дозі $\sim 0,29$ Гр впродовж 231 доби на 38,0 %, а за 74 доби інкорпорації ^{137}Cs – на 26,8 %.

Тотальне дозозалежне утворення активних форм кисню і азоту вздовж треків іонізації, а також продуктів ПОЛ, насамперед в структурних елементах клітин, є вагомим аргументом для зменшення їх кількості при побудові стратегії і тактики захисту від впливу іонізуючих випромінювань. Накопичення активних форм кисню (АФК) та продуктів ПОЛ характеризує розвиток стрес-реакцій за дії будь-яких подразників, які знаходяться під контролем системи антиоксидантного захисту (Semenza G. L. 1999, Барабой В. А., 2006). Широке коло антиоксидантів при застосуванні у великих концентраціях можуть проявляти проокисні властивості, пов'язані з прискоренням, а не з гальмуванням вільно-радикальних реакцій. За тривалого вживання, зокрема за умов дії радіації у малих дозах впродовж життя, необхідні антиоксиданти з потужними можливостями депонування фотонів, які властиві меланінам з *Aphyllophorales*. Завдяки здатності існувати в окисненій (хіноновій) та у відновленій (гідрохіноновій) формах ці меланіни в біохімічних процесах поводять себе як напівпровідники, зумовлюючи антиоксидантні, радіо- і фотопротекторні та електронно-іонообмінні властивості. Дослідженнями меланінів *in vitro* у складі меланін-глюканового комплексу з *F. fomentarius* (МГК-Ф) у них виявлено антиоксидантну активність, максимальний прояв якої реєструвався за концентрації 230 мкг/см^3 . Водночас показано здатність МГК-Ф активізувати *in vivo* внутріклітинні механізми антиінфекційного захисту в лейкоцитах крові після інтраперитонеальних ін'єкцій BALB/с мишам $0,25 \text{ см}^3$ розчину МГК-Ф в 0,9 % розчині NaCl з концентрацією МГК-Ф 500 мкг/см^3 .

ДНК-захисна та антимутагенна дія МГК-Ф в клітинах різного генезу.

Чутливість ДНК до радіаційного впливу зумовлює необхідність захисту її структурної цілісності і геному в цілому від окисного стресу та ушкоджень систем репарації з метою зменшення темпів мутагенезу, злоякісної трансформації клітин і малігнізації тканин. Результати дослідження здатності МГК-Ф протидіяти руйнації ДНК у класичній моделі її ушкодження продуктами пероксидазного окиснення (ПО) бензидину у фага- λ свідчать про ефективне пригнічення ним окиснення (рис. 2.) амінобіфенілів і попередження утворення міжниткових і перехресних зшивок (МПЗ) ДНК-ДНК (O'Brien P., 1984), які призводять до мутацій і трансформації клітин.

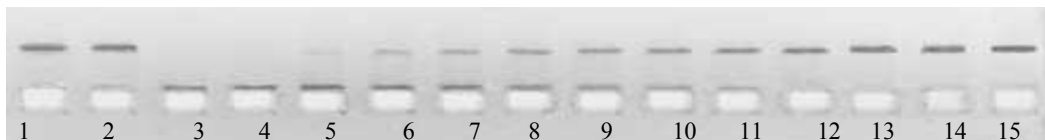


Рис. 2. Електрофореграма ДНК фага- λ у присутності продуктів пероксидазного окиснення бензидину і меланінів у складі МГК-Ф: 1 – нативна ДНК фага- λ ; 2 – ДНК фага- λ експонована в системі пероксидаза хрому/ H_2O_2 ; 3 – ДНК фага- λ модифікована продуктами ПО бензидину; 4–15 – те ж в присутності МГК-Ф (4 – 2,46; 5 – 2,77; 6 – 3,12; 7 – 3,51; 8 – 3,95; 9 – 4,44; 10 – 4,99; 11 – 5,62; 12 – 6,32; 13 – 7,11; 14 – 8; 15 – 9 мкг/см^3).

Найімовірніше продукти ПО бензидину більш ефективно взаємодіють з електрофільними центрами меланіну, ніж з ДНК.

Аналіз результатів впливу МГК-F на бактерії штамів *S. typhimurium* свідчить, що цей комплекс запобігає появі мутацій шляхом заміни пар основ (*S. typhimurium* TA 100) та, дещо меншою мірою, – появі мутацій за типом зсуву рамки зчитування (*S. typhimurium* TA 98) і, як потужний окиснювач, він суттєво знижує мутагену активність продуктів ПО бензидину.

Результати дослідження впливу МГК-F на кількість ОНР ДНК за умов опромінення BALB/с мишей дозою $\sim 5,0$ Гр/16 год наведено на рис. 3.

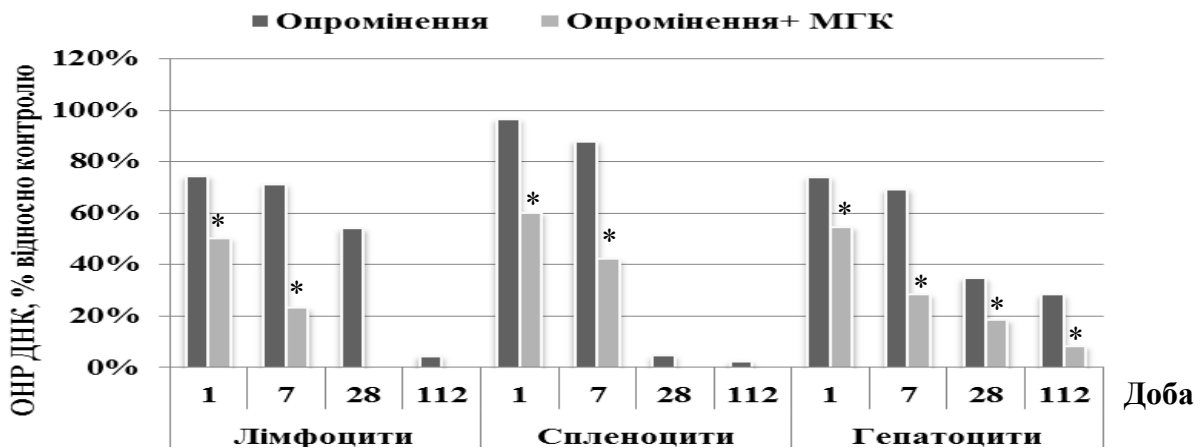


Рис. 3. Відносна кількість ОНР ДНК клітин різного генезу BALB/с мишей у різні терміни після експозиції (1, 7, 28, 112 добу) у дозі $\sim 5,0$ Гр/16 год, які перед опроміненням отримали ін'єкцію МГК-F ($125 \text{ мкг}/0,25 \text{ см}^3$) і вживали МГК-F впродовж спостереження у вигляді водного розчину такої ж концентрації.

Примітка: 1) Рівні ОНР ДНК клітин неопромінених мишей приймали за 100 %. 2)* – $P < 0,05$ відносно клітин опромінених мишей.

Максимум додаткових ОНР ДНК в клітинах BALB/с мишей спостерігається через одну добу після експозиції і становить 74,2 % у лімфоцитах, 96,3% – спленоцитах і 73,8 % – гепатоцитах. У подальшому величина показника зменшується і на 7-у і 28-у доби становить відповідно у лімфоцитах 71,0 і 53,7 %, в спленоцитах – 87,7 і 44,4 %, а гепатоцитах – 69,2 і 34,6 %. За дії іонізуючого випромінювання в клітинах мишей рівні ОНР ДНК досягали контрольних значень практично на 112 добу. Водночас у мишей, які перед експозицією в інтенсивних γ -полях отримали ін'єкцію МГК-F і вживали *per os* водний розчин МГК-F ($500 \text{ мкг}/\text{см}^3$) до кінця спостереження, максимальні значення рівнів ОНР ДНК були нижчими і становили для лімфоцитів 50,3 %, спленоцитів – 60,0 % і гепатоцитів – 54,4 %. У цій групі мишей вже на 28 добу величина цього показника досягає контрольних значень у лімфоцитах і спленоцитах, а в гепатоцитах на 112 добу – перевищує контроль лише на 8,2 %.

Вживання BALB/с мишами МГК-F у вигляді водного розчину ($500 \text{ мкг}/\text{см}^3$) за умов хронічного опромінення впродовж 231 доби також свідчить про зменшення кількості ОНР ДНК у клітинах (рис. 4). Аналогічні результати отримані як для BALB/с мишей, так і C57BL/6 мишей, які після припинення

вживання радіоактивної води перейшли на звичайний раціон, що містив ХМГК-Ф (з розрахунку 25 мг/кг маси миші).

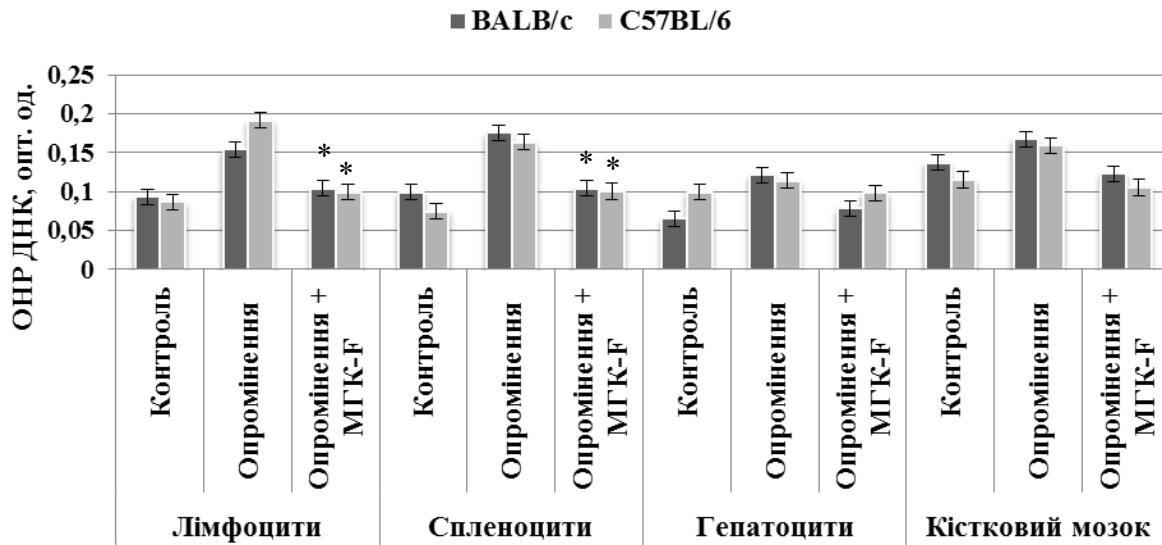


Рис. 4. Рівні одониткових розривів ДНК різних видів клітин лінійних мишей, які були опромінені в сумарній дозі $\sim 0,29$ Гр/ 231 добу та отримували МГК-Ф у вигляді водного розчину для пиття (500 мкг/ см^3).

Примітка. * – $P < 0,05$ відносно даних без МГК-Ф.

Рівні ОНР ДНК у клітинах різного генезу були нижчими, ніж у опроміненіх тварин, що не отримували цей комплекс. Показник ОНР ДНК достовірно зменшувався в лімфоцитах і гепатоцитах BALB/c мишей, а також в лімфоцитах і спленоцитах C57BL/6.

Антиканцерогенний ефект МГК-Ф. Внесення МГК-Ф у середовище життєдіяльності клітин пухлинних ліній Hela і PC-12 та лімфоцитів периферичної крові здорової людини супроводжувалось достовірними змінами у рівнях ОНР в ДНК усіх типів апробованих клітин. Після 25-хвилинної обробки контрольних лімфоцитів МГК-Ф в них спостерігалась тенденція до зниження рівнів ОНР ДНК. Водночас у злоякісно перероджених клітинах Hela і PC-12 у присутності МГК-Ф підвищувалась величина цього показника. Здатність МГК-Ф впливати на ДНК-апарат злоякісно трансформованих клітин і чинити системну дію було виявлено також при дослідженні перебігу спонтанної пухлинної хвороби у ICR мишей. У мишей, які вживали цей комплекс біополімерів впродовж життя у порівнянні з мишами контрольної подовжувався термін візуалізації пухлинних вузлів в середньому на $40 \pm 5,7$ діб і зростала тривалість життя на $48 \pm 6,1$ діб.

Структурні зміни в ДНК лімфоцитів опромінюваних людей. Радіаційні ефекти у різних категорій опромінюваних людей на рівні ДНК залежать від накопиченої дози загального зовнішнього іонізуючого опромінення. У працівників з накопиченою дозою опромінення від 0,05 до 0,1 Зв показник ОНР ДНК лімфоцитів крові був достовірно нижчим за аналогічний показник осіб з накопиченою дозою γ -опромінення, що значно перевищувала регламентований НРБУ-97/Д-2000 рівень для персоналу групи А, і становила 0,50 Зв. Цікаво, що у працівників ДСП «Комплекс» з накопиченою дозою загального зовнішнього

γ -опромінення 0,20 Зв рівень ОНР ДНК лімфоцитів крові був близьким до рівня аналогічного показника персоналу «Укриття» з накопиченою дозою 0,5 Зв і вище. Можливо, що працівники ДСП «Комплекс» і ВО «РАЕС», в яких рівень ОНР ДНК в 1,3 рази перевищував контрольні значення, контактували з необлікованими радіоаерозолями. Відомо, що вміст радіоїоду може зростати на порядки під час планових ремонтних робіт, а також робіт, пов'язаних з перезавантаженням реактора. Найвищі рівні ОНР ДНК виявлено у само поселенців. Він був вищим за показник персоналу «Укриття» з дозою опромінення $\geq 0,50$ Зв та персоналу реакторних цехів ВО «РАЕС», що пов'язано з їх поважним віком та інкорпорацією широкого спектру радіонуклідів з продуктами харчування і водою.

Модифікуючий вплив МГК-Ф на ОНР ДНК лімфоцитів крові опромінюваних людей. Використання персоналом повного комплексу спецодягу при виконанні робіт в умовах високої вологості внутрішніх приміщень «Укриття» пов'язане з надмірним емоційним і фізичним навантаженням, може призводити до гострого порушення терморегуляції з розвитком пароксизмальних розладів свідомості (Табачников С. И. и др., 2002). З метою моделювання цих умов у зразках периферичної крові персоналу «Укриття» додатково оцінювали індукцію рівнів ОНР в ДНК лімфоцитів після прогрівання в термостаті впродовж 15 хв за температури 42°С. Одночасно до проб з прогрітими і непрогрітими лімфоцитами крові вносили 0,1 %-й розчин МГК-Ф (концентрація 10 мкг/см³). Попереднє внесення МГК-Ф до проб з лімфоцитами опромінюваних осіб та наступним прогріванням супроводжувалось зниженням (в середньому на 15,0 %) рівнів ОНР ДНК (з $0,233 \pm 0,035$ до $0,198 \pm 0,022$ опт. од.).

«Ефект свідка» в клітинах різного генезу BALB/c мишей. Синхронне виникнення змін у первинній і вторинній структурі молекул ДНК може сприяти зростанню ефективності інформаційного впливу іонізуючих випромінювань на рівні генетичного апарату клітини і змінювати якість сигналів, що надходять у міжклітинне середовище від опромінених клітин, посилюючи їх здатність завдавати неопроміненим клітинам ушкоджень, схожих на «променеві». Кількісну оцінку цього явища, відомого як «ефект свідка» (Logimore S. A. et al, 2001), здійснювали за додатковою індукцією ОНР ДНК клітин різного генезу.

На рис. 5 наведено результати впливу МГК-Ф на рівні ОНР ДНК у клітинах неопромінених мишей BALB/c, які були переміщені в живильне середовище клітин опромінених мишей у дозі $\sim 5,0$ Гр/16 год. Аналіз представлених даних свідчить, що ін'єкція МГК-Ф BALB/c мишам до експозиції зменшує здатність 3-х годинних живильних середовищ їх клітин індукувати додаткові рівні ОНР ДНК в клітинах контрольних мишей. Через одну добу після експозиції цей показник для клітин опромінених мишей, які до опромінення отримали 125 мкг/0,25 см³ МГК-Ф інтраперитонеально, був нижчим без ін'єкції МГК-Ф: для лімфоцитів на 13,7 %, гепатоцитів – 31,5, спленоцитів – 5,2, пулу клітин кісткового мозку – 21,8, клітин астроглії – 17,7 %.

Аналіз наведених на рис. 6 результатів свідчить, що прояви «ефекту свідка» мають місце і за умов хронічного опромінення. Клітини різного генезу BALB/c і

C57BL/6 мишей з накопиченням відповідно 0,29 і 0,39 Гр за 231 добу набувають здатності індукувати додаткові рівні ОНР ДНК в клітинах контрольних тварин.

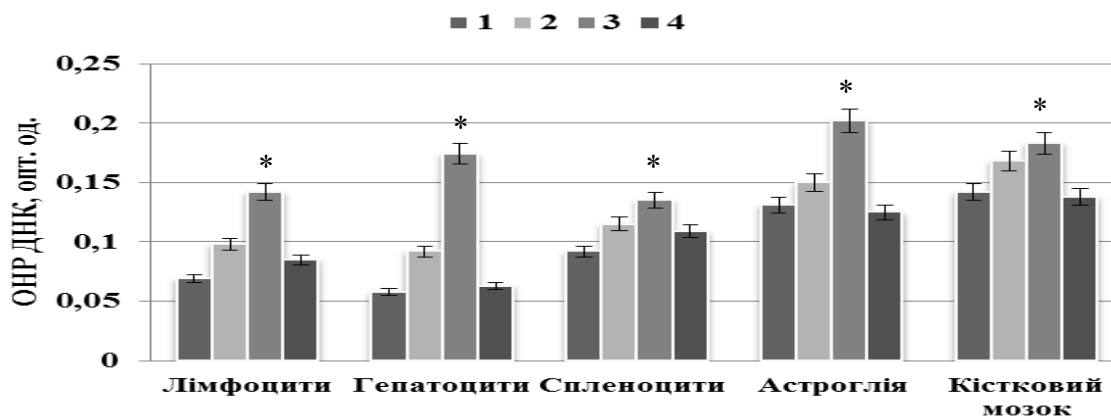


Рис. 5. Рівні одониткових розривів ДНК різних видів клітин неопромінених BALB/c мишей після їх переміщення в живильне середовище клітин BALB/c мишей, які отримані через одну добу після опромінення у дозі $\sim 5,0$ Гр/16 год, та після ін'єкції МГК-Ф (125 мкг/ $0,25$ см³) до опромінення: 1 – клітини неопромінених тварин; 2 – клітини опромінених тварин; 3 – живильне середовище після 3-х год інкубації клітин опромінених тварин; 4 – живильне середовище після 3-х год інкубації клітин опромінених тварин, які отримали ін'єкцію МГК-Ф.

Примітка. * – $P < 0,05$ відносно контролю.

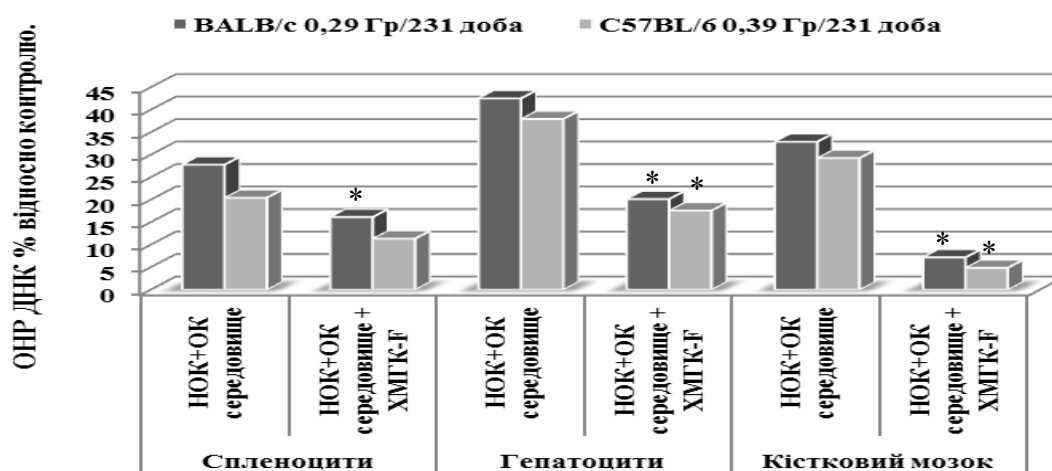


Рис. 6. Рівні одониткових розривів ДНК в клітинах неопромінених BALB/c і C57BL/6 мишей після їх переміщення в живильне середовище клітин мишей, відповідно опромінених у дозі $\sim 0,29$ Гр і $\sim 0,39$ Гр за 231 добу, які щоденно з сухим кормом вживали ХМГК-Ф (з розрахунку 25 мг/кг маси миші): НОК+ОК середовище – неопромінені клітини після 3-х год перебування в живильному середовищі опромінених *in vivo* клітин; НОК+ОК середовище+ХМГК-Ф – неопромінені клітини після перебування 3-х год в живильному середовищі клітин опромінених мишей, що вживали ХМГК-Ф.

Примітка. * – $P < 0,05$ відносно клітин опромінених тварин.

При цьому прояв «ефекту свідка» в усіх видах клітин неопромінених мишей, є вищими у BALB/c мишей. Водночас цей феномен виявляється меншою

мірою у мишей, які вживали ХМГК-*F per os* як додаток до сухого корму з розрахунку 25 мг/кг маси миші щоденно. Різниця у величині рівнів ОНР ДНК в клітинах контрольних тварин під впливом живильного середовища клітин опромінених мишей і опромінених мишей, які впродовж експозиції вживали ХМГК-*F*, є найменшою для спленоцитів – 11,7 % у BALB/c і 9,1 % у C57BL/6 мишей, і найвищою для клітин кісткового мозку – 25,7 % у BALB/c і 24,4 % у C57BL/6 мишей. Отримані дані можуть вказувати на вільнорадикальну природу феномену, або, частини не ідентифікованих в цьому дослідженні сигнальних молекул, що продукуються опроміненими клітинами, та про зменшення інтенсивності передачі сигнальної інформації з опромінених клітин на неопромінені за наявності у їх середовищах життєдіяльності меланів з ХМГК-*F*.

Пострадіаційна репарація ОНР ДНК і захисний ефект МГК-*F*. На відміну від ендогенних метаболічних ушкоджень ДНК, радіаційні мають складний характер і кластерні угруповання. Різні типи ендогенних ушкоджень видаляють специфічні механізми репарації, унеможливаючи їх накопичення (Friedburg E. C. et al., 2006). Низька кількість кластерних ушкоджень ДНК у клітинах ссавців за умов дії малих доз, менших за 200 мГр, не можуть активувати G2/M чекпойнт-арешт і стимулювати репарацію ДНК (Газієв А. И., 2011). За цих умов мало релаксує гетерохроматин, що погіршує доступ ферментів репарації до місць пошкоджень ДНК (Marples B. et al., 2004; Fernet M. et al, 2010; Газієв А. И., 2011), сповільнює темпи і зменшує ефективність репарації ДНР ДНК і МПЗ ДНК-ДНК, зумовлюючи кінцеві ефекти – від загибелі клітини до виникнення хромосомних, генних мутацій та непластичної трансформації. Біля 60–80 % модифікацій основ після γ -опромінення є результатом дії АФК в мікрооточенні ДНК (Halliwell B., Aruoma O. I., 1993; von Sonntag C., 2006). Тому використання антиоксидантів, зокрема МГК-*F*, є доцільним для стимуляції процесів репарації.

Наведені на рис. 7 дані, свідчать, що через одну добу після опромінення BALB/c мишей в дозі $\sim 5,0$ Гр/16 год достовірно зростає рівень ОНР в ДНК спленоцитів з $0,096 \pm 0,02$ до $0,175 \pm 0,019$ опт. од.

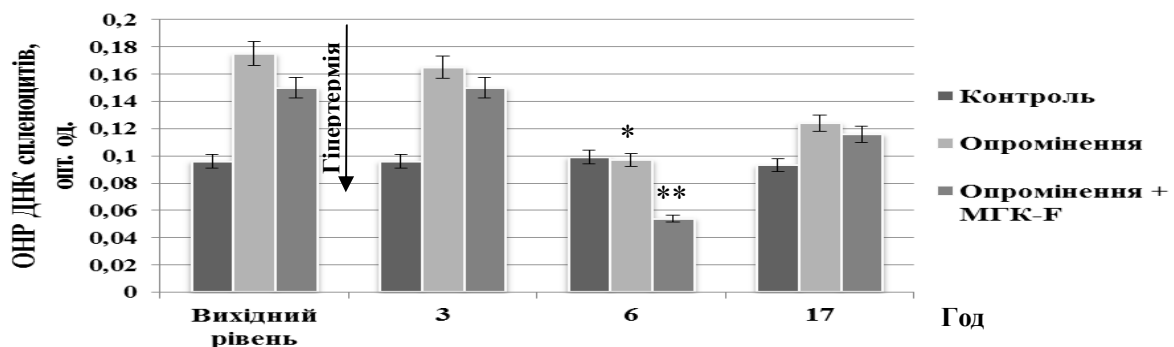


Рис. 7. Репараційні процеси в ДНК спленоцитів BALB/c мишей через одну добу після опромінення у дозі $\sim 5,0$ Гр/16 год та після попередньої ін'єкції МГК-*F* ($125 \text{ мкг}/0,25 \text{ см}^3$).

Примітка: 1) * – $P < 0,05$ відносно вихідного рівня клітин опромінених мишей; 2) ** – $P < 0,05$ відносно вихідного рівня клітин опромінених мишей, що отримали ін'єкцію МГК-*F*.

Подальша гіпертермія зразків при 42° С вродовж 15 хв супроводжується зниженням рівнів ОНР ДНК в спленоцитах, одержаних від опромінених тварин, з достовірними відмінностями на 6-у год, після якої рівні ОНР ДНК збільшуються. Очевидно, прогрівання, як самостійний стресовий чинник, викликає додаткові ушкодження клітин і одночасно стимулює в них репараційні процеси. Найвищі показники репараційних процесів в клітинах BALB/c мишей виявляються для клітин опромінених мишей, які до експозиції отримали ін'єкцію МГК-Ф, і свідчать про здатність цього комплексу біополімерів зменшувати швидкість утворення ОНР ДНК клітин і підтримувати репараційні процеси.

Вплив МГК-Ф на пострадіаційне відновлення загальної клітинної маси і функціональні можливості тканин. За дії іонізуючих випромінювань клітини елімінуються в тканинах, що швидко відновлюються, і лише стабільні мутації стовбурових клітин здатні призвести до віддалених наслідків – лейкозів та раків. У тканинах, що відновлюються повільно, клітинні ушкодження накопичуються, впливаючи на функціональні характеристики органів.

Можливість репопуляційного відновлення загальної клітинної маси і функціональних можливостей тканин за використання МГК-Ф було оцінено на моделі утворення колоній стовбуровими клітинами кісткового мозку (КМ). Результати культивування пулу клітин КМ у дифузійних камерах засвідчили, що через одну добу після опромінення у дозі 5,0 Гр/16 год активність утворення колоній пулом цих клітин мишей, які не отримали МГК-Ф перед опроміненням, була в середньому у 1,5 рази нижчою порівнянно з контролем, в той час як після ін'єкції МГК-Ф мишам-донорам функціональна активність КМ збільшувалась майже вдвічі. Найбільше пригнічення утворення колоній у культурі КМ спостерігали через 7 діб після опромінення. У мишей, що перед опроміненням отримали МГК-Ф, виявили підвищення рівнів цього показника. Через 30 діб після експозиції у інтенсивних γ -полях колонієутворення клітин КМ мишей ще залишалось низьким, проте у тварин, що отримали МГК-Ф, цей показник був майже у сім разів вищим. Тривале зовнішнє опромінення і 74-добова інкорпорація ^{137}Cs ефективніше впливали на проліферацію клітин, ніж обробка мишей-реципієнтів цитостатиком циклофосфаном. Вживання МГК-Ф у вигляді водного розчину (500 мкг/см^3) значно зменшувало цитостатичний ефект на клітини-попередники стовбурових елементів КМ, що може вказувати на зменшення продукції сигнальних молекул і високий рівень радіаційного захисту МГК-Ф.

За умов опромінення в дозі 0,1 мГр вродовж 100 діб також була показана пострадіаційна загибель клітинних популяцій у некритичних органах, зокрема в печінці, яку відстежували за динамікою активності внутріклітинного ферменту АЛТ у сироватці крові. Достовірне підвищення величини цього показника досягалось вже через 4 тижні після початку експозиції і корелювало з патоморфологічною картиною печінкової тканини, де ознаки запалення змінювались дистрофією, а в місцях інфільтрації поруч з лімфоцитами виявлялись гістиоцити та в деяких випадках мали місце глибокі некротичні ураження. Одночасно у опромінюваних тварин зростали сироваткові рівні аутоантитіл (АуАт) до ПСЛ з досягненням достовірних відмінностей на кінець 1-го місяця

спостереження, а також рівні ОНР ДНК гепатоцитів і виявлявся «ефект свідка» – ушкоджуючий вплив живильного середовища опромінених гепатоцитів на ДНК неопромінених. Водночас мало місце зниження інтенсивності репарації ОНР ДНК. Послідовність цих змін є ілюстрацією розвитку подій, що в кінцевому результаті зумовлюють формування аутоімунного гепатиту. У групі опромінюваних мишей, яким згодовували ХМГК-Ф (25 мг/кг маси миші), сироваткові рівні АуАт до ПСЛ були нижчими за рівні аналогічного показника мишей, експонованих на бетонних брикетах з радіонуклідами, які не вживали ХМГК-Ф, а також у цих тварин не було морфологічних ознак запалення, дистрофії і некротичних уражень, що передують формуванню гепатиту, а отже не виявились ознаки втрат клітинної маси і функціональної активності.

Під час дослідження сироватки крові людей, що працювали вахтовим методом у ЗВіБ(о)В, у 23 % випадків (7 зразків з 31) виявлено АуАт до ПСЛ, при цьому вміст АуАт до ПСЛ займав проміжне положення між аналогічними показниками крові донорів СПК м. Києва і хворих на хронічні гепатити.

Особливості імунोगрама у професійно опромінюваних осіб. Водночас з підвищеною продукцією Т-клітин, у професійно опромінюваних осіб, що працюють у ЗВіБ(о)В, має місце стимуляція і В-клітинної ланки неспецифічної імунної відповіді. Хронічний вплив іонізуючого випромінення призводив до напрацювання в організмі не ідентифікованих чинників, як білкової, так і небілкової природи, які додатково (на 10–18 %) збільшують кількість клітин, що експресують Т- і В-клітинні маркери. Припущення щодо тотальної стимуляції неспецифічної Т- і В-ланки імунної відповіді у професійно опромінюваних осіб у ЗВіБ(о)В підтверджується даними про кількість імунорегуляторних клітин (Т-хелперів і Т-супресорів) у «теофіліновому» тесті, які свідчать, що у цих категорій осіб має місце тенденція до збільшення частки Т-хелперних лімфоцитів. При цьому кількість Т-супресорних лімфоцитів має тенденцію до зменшення і відношення Т-хелпери/Т-супресори є вищим, ніж у донорів СПК м. Києва.

Захист організмів від негативного впливу іонізуючих випромінювань апріорі передбачає посилення їхньої радіорезистентності, яка обумовлюється ендогенними речовинами, що здатними впливати на зародження і розвиток радіаційно-індукованих процесів (Кудряшов Ю. Б., 2004). У використаних нами моделях опромінення лінійних мишей було показано здатність опромінених клітин генерувати ушкодження ДНК неопромінених клітин-сусідів на кшталт «променевиких».

Існування між клітинними популяціями організму обміну інформаційними сигналами через біологічні середовища є визнаним фактом, тому цілком логічно очікувати сигналів від інтактних клітин до опромінених. Аналіз даних, наведених на рис. 8, свідчить, що, одночасно з традиційним «ефектом свідка» (ушкоджуюча дистанційна дія опромінених клітин на неопромінені клітини-сусіди) неопромінені клітини впливають на опромінені, оскільки їх живильне середовище призводить до зменшення величини показника ОНР ДНК ушкоджених радіацією клітин. Якщо в першому випадку в ролі імовірних індукторів додаткових рівнів ОНР ДНК можна цілком обґрунтовано розглядати активні форми кисню, азоту й

інші вільнорадикальні сполуки, то у другому, зменшення рівнів ОНР ДНК опромінених клітин можна гіпотетично пов'язувати зі здатністю неопромінених клітин зменшувати надлишок оксирадикалів токсичних для ДНК.

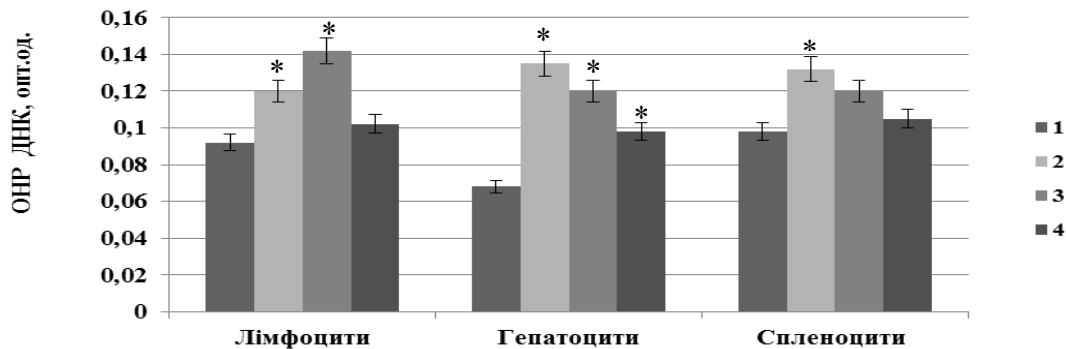


Рис. 8. Рівні одностранных разрывов ДНК у клітинах інтактних і опромінених в дозі $\sim 5,0$ Гр/16 год BALB/c мишей через 28 діб після опромінення та після взаємної заміни їх живильних середовищ після 3-х год інкубування: 1 – клітини неопромінених тварин; 2 – живильне середовище 3-х год інкубації клітин опромінених тварин; 3 – клітини опромінених тварин; 4 – живильне середовище 3-х год інкубації клітин неопромінених тварин.

Примітка.*– $P < 0,05$ відмінність від контролю.

В організмі діє потужна система гуморальних радіозахисних чинників (ендогенні стресові білки, металотіонеїни, антиоксиданти тощо), активація яких підвищує рівень радіостійкості (Хуе L. Y. et al, 2002; Morgan W. E., 2003). Функціонування цієї системи можна контролювати антиоксидантами, зокрема МГК-F, очікуючи реакції на всіх рівнях організації організму.

Вплив радіації на поведінкові реакції лінійних мишей і модифікуючий вплив грибних біополімерів. На дію іонізуючих випромінювань у малих дозах чутливо реагує центральна нервова система, функціонування якої можна оцінювати за показниками поведінкових реакцій, зокрема тривожності. За ними дослідні тварини істотно відрізнялися і за відсутності впливу радіації. В цілому C57BL/6 миші були більш рухливими і менш лякливими. Спонтанне накопичення з питною водою і зеленим кормом ^{137}Cs (до 2,2 кБк/кг у BALB/c мишей і 1,2 кБк/кг у C57BL/6 мишей) і ^{90}Sr (до 1,4 кБк/кг у BALB/c мишей і 0,42 кБк/кг у C57BL/6 мишей) супроводжувалось зростанням показників тривожності в мишей обох ліній, які достовірно зростали у більш чутливих до впливу радіації BALB/c мишей. Вони ставали менш рухливими, частіше заглядали вниз і затаювались, виявляли більшу готовність до оцінки нового оточення, продукували більше болюсів. Інкorporація ^{137}Cs з накопиченням у тілі мишей на чотири порядки вищої активності асоціювалась із подальшим зниженням загальної рухової активності (в середньому у 4,7 рази у BALB/c мишей і в 4,3 рази у мишей C57BL/6), достовірним скороченням часу перебування у відкритих рукавах ПХЛ, зростанням показників тривожно-фобічного стану і готовності до оцінки нового оточення. З'ясування можливості впливу ХМГК-F (із розрахунку 25 мг/кг маси

мишей) на поведінкові реакції свідчить, що у мишей з підвищеною чутливістю до радіаційного впливу (BALB/c) за постійного вживання цього комплексу біополімерів виявляється незначна тенденція до зменшенням ознак тривожності – лише у 50 % досліджуваних параметрів. Водночас у мишей більш радіостійкої лінії (C57BL/6) таку тенденцію виявлено в середньому у 83 % досліджуваних показників. У цілому зміни у поведінці мишей, що вживали ХМГК-Ф, засвідчують про здатність цієї субстанції зменшувати в ознаки тривожності й страху, виявляючи анксиолітичну активність.

Вплив ХМГК-Ф на тривалість життя хронічно опромінюваних BALB/c мишей. Експозиція впродовж життя BALB/c мишей з накопиченням дози опромінення 0,54 Гр сприяла скороченню середньої тривалості життя: з $585,3 \pm 62,3$ у контролі до $432,9 \pm 58,5$ діб. У мишей цієї ж лінії, які паралельно експонувались на бетонних брикетах з радіонуклідами і вживали водний розчин МГК-Ф (500 мкг/см^3), тривалість життя у порівнянні з опроміненними мишами склала $453,3 \pm 57,3$ діб, а у мишей, які отримували ХМГК-Ф (із розрахунку 25 мг/кг маси) цей показник зріс до $563,0 \pm 67,0$ діб і майже досяг рівня контролю.

Модифікуюча дія ХМГК-Ф на показники плодовитості лінійних мишей. Вживання ХМГК-Ф супроводжувалось зростанням частки самиць, що народжували, в середньому на 23 % у BALB/c мишей, на 57 % у CC57W/Mv мишей і на 59 % у C57BL/6 мишей. Збільшилась кількість пологів на одну самицю – у 3,3 рази у мишей CC57W/Mv і C57BL/6, та у 2,2 рази – у мишей лінії BALB/c, і також недостовірно зростала кількість мишенят у приплоді.

Радіосорбуюча здатність ХМГК-Ф в системах *in vitro* та *in vivo*. Основними радіонуклідами, що забруднили довкілля у зв'язку з Чорнобильською катастрофою, і сьогодні визначають дози внутрішнього опромінення, є такі: ^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{238}Pu , ^{239}Pu , ^{241}Pu , ^{241}Am . Частка внутрішнього опромінення від загальної дози у постраждалих осіб з 10 % у перші два роки зросла до 60 % на кінець 1996 р. (Bennet P. V., 1995, 1996). Тому важливою умовою ефективності радіаційного захисту організму є обмеження їх депонування. Досліди сорбуючої спроможності ХМГК-Ф в системах *in vitro* свідчать про потужні сорбційні властивості стосовно іонів рідкоземельних металів і актиноїдів взагалі та трансуранових елементів зокрема, а також здатність активно зменшувати вміст у зразках крові «уремічних токсинів» – сечовини і креатиніну. Згодовування тваринам ХМГК-Ф впродовж 40 діб після досягнення максимальної інкорпорації ^{137}Cs призводило до достовірного (майже у два рази) падіння загальної активності в тушках мишей.

Порівняння радіозахисної активності індраліну та МГК-Ф. Встановлено, що коефіцієнт захисту за умов гострого загального зовнішнього іонізуючого опромінення BALB/c мишей в ізоморфних полях з ПЕД 40,2 Гр/год і дозою 5,95 Гр/8,5хв для індраліну (класичного радіопротектора) становив 0,33, водночас для МГК-Ф він був у 2,3 раза вищим (0,75).

Індивідуальна особливість у відповіді на радіаційний вплив і доцільність її модифікації. Для забезпечення ефективності радіаційного захисту організму окрім виду, дози, часу дії іонізуючих випромінювань необхідно враховувати індивідуальну чутливість до радіаційного впливу. Встановлено, у клітинах

чутливих до радіаційного впливу мишей при порівнянні з радіостійкими був підвищеним вихідний рівень ОНР в ДНК. Після експозиції мишей обох ліній в інтенсивних γ -полях з накопиченням дози $\sim 5,0$ Гр/16 год рівні ОНР ДНК в клітинах різного генезу, інтенсивність прояву «ефекту свідка», і пошкоджень пострадіаційних репараційних процесів у ДНК були вищими у BALB/c мишей. Виявлялися також відмінності і в типах адаптаційних реакцій, що формуються за умов опромінення в дозах $\sim 0,29$ Гр впродовж 231 доби. У радіочутливих BALB/c мишей абсолютна кількість лейкоцитів у крові зростала у середньому у 1,5 раза, коли у радіостійких мишей (лінія C57BL/6) цей показник збільшився лише на 16 %. Одночасно у мишей BALB/c співвідношення лімфоцитів і сегментоядерних нейтрофілів на тлі стабільного лейкоцитозу було характерним для стресової реакції, в той час, як у C57BL/6 мишей зміни у морфологічних параметрах крові мали протилежне спрямування і свідчили про формування антистресової реакції спокійної активації. У мишей з вищими показниками генетично обумовленої чутливості навіть поза впливом радіаційного чинника виявлялись ознаки тривожної поведінки, які значно посилювалися за умов дії іонізуючих випромінювань. Застосування МГК-F перед процедурою гострого опромінення нівелювало прояви стресової реакції за показниками лейкограм мишей обох ліній. Радіорезистентність, зниження пострадіаційної індукції ОНР ДНК у клітинах різного генезу, інтенсивності прояву «ефекту свідка» і менша імовірність формування стресової реакції може бути пов'язана з більшою кількістю меланізованих структур в клітинах C57BL/6 мишей, які впливають на рівень антиоксидантного і радіозахисного ефектів біологічних середовищ, а також зумовлюють чорний колір шкіри та хутра.

Описані закономірності поширення радіаційних ефектів в організмі ссавців, у тому числі і людини, дозволяють сформулювати базові принципи протидії їх розвитку:

- 1) обмеження рівня депонування радіонуклідів;
- 2) зменшення рівнів активних форм кисню і азоту, продуктів ПОЛ;
- 3) захист від окисного стресу структурної цілісності ДНК, геному в цілому і репараційних систем ДНК зокрема;
- 4) стимуляція процесів репарації і репопуляційне відновлення загальної клітинної маси і функціональних можливостей тканин, мобілізація їхніх ресурсних можливостей;
- 5) підвищення активності ендogenous фону радіорезистентності.

Наявність в Україні легко відновлюваних природних джерел досліджених комплексів біополімерів (трутовик *F. fomentarius*) та результати всебічного дослідження притаманних їм біологічних активностей, з урахуванням наявності методики визначення варіабельності індивідуальної радіочутливості людини (Дьоміна Е. А., Рябченко Н. М., 2006), дозволяють вирішувати проблему захисту від наслідків хронічного впливу іонізуючих випромінювань.

ВИСНОВКИ

В дисертації наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукової проблеми захисту організмів ссавців від радіаційного впливу – доповнено концепцію радіаційного захисту від шкідливих медико-біологічних наслідків хронічного опромінення, яка ґрунтується на власних експериментальних даних і аналізі сучасних теоретичних уявлень. Передбачається комплексний підхід: виведення депонованих радіонуклідів, зниження інтенсивності окисного стресу, нормалізація активності аутофлори, стимуляція адаптаційних процесів; реалізація якого можлива за використання розроблених і запропонованих для практичного застосування композитів з грибних біополімерів (хітину, β -глюканів і меланінів).

1. Показано несприятливий вплив іонізуючих випромінювань низької інтенсивності в малих дозах на інтегральні показники життєдіяльності лінійних мишей, а саме: на адаптаційні і поведінкові реакції, тривалість життя і плодовитість, що спонукає пошук засобів протидії.

2. Встановлено індукцію додаткової кількості ОНР ДНК, зміни її нативності і зменшення ефективності репарації в клітинах різного генезу – лімфоцитах периферичної крові, спленоцитах, гепатоцитах, клітинах головного і кісткового мозку як за малих доз опромінення низької інтенсивності, так і за опромінення в дозах близьких до ЛД_{50/30} та інкорпорації ¹³⁷Cs.

3. Передбачається, що в організмі локальні радіаційні ефекти рівня ДНК як зовнішнього опромінення, так і депонування високих активностей ¹³⁷Cs, посилюються за участі «ефекту свідка», згідно з яким опромінені клітини впливають на неопромінені, продукуючи токсичні для ДНК чинники. Водночас за цим механізмом неопромінені клітини можуть регулювати продукцію цих чинників опроміненними клітинами-сусідами.

4. З'ясовано, що в якості маркеру порушення функції аутоімунітету за впливу малих доз опромінення можна використовувати поліантигенний комплекс білків з мембран гепатоцитів – печінково-специфічний ліпопротеїн, рівні антитіл до якого зростають за тривалої експозиції мишей BALB/c в полях іонізуючих випромінювань низької інтенсивності.

5. Встановлено, що за тривалого впливу іонізуючих випромінювань в малих дозах радіобіологічні ефекти проявляються на системному рівні як стимуляція спонтанного канцерогенезу, активація імунної системи з надмірною стимуляцією аутоімунітету; пригнічення здатності стовбурових елементів кісткового мозку до утворення колоній; домінування ознак тривожної поведінки; зростання частки стресових адаптаційних реакцій зі зменшенням інтегральних показників тривалості життя та здатності до відтворення потомства.

6. Ґрунтуючись на отриманих результатах і сучасних теоретичних уявленнях на основі комплексного підходу розроблена концепція радіаційного захисту людини від хронічного опромінення, що передбачає: виведення депонованих радіо-нуклідів (методом ентеросорбції), зниження окисного стресу (із застосуванням меланінів), нормалізацію активності аутофлори з використанням нетоксичних антисептичних засобів), стимуляцію адаптаційних реакцій (за допомогою адаптогенів). В якості джерела захисних чинників

запропоновані біополімери з *Aphyllophorales* (хітин, β -глюкани і меланіни), яким притаманні вказані вище якості, і які придатні для тривалого вживання.

7. Культивування в присутності меланіну клітин різного генезу як інтактних, так і опромінених у різних дозах іонізуючих випромінювань свідчить про зниження в середньому на 30 % ОНР ДНК, що сприяє захисту первинної і вторинної структури ДНК.

8. Застосування меланін-глюканового комплексу за різних способів і доз опромінення лінійних мишей призводить до послаблення (на 15–35 %) дистанційної передачі сигналів з опромінених клітин на неопромінені, що оцінювали за кількістю ОНР ДНК.

9. Комплексам біополімерів з *Aphyllophorales* поряд з антиоксидантними, ДНК-протекторними, антимутагенними і радіосорбційними властивостями, притаманна анксиолітична активність, а також пряма антисептична дія, зокрема проти музейного штаму бактерії *H. pylori*, музейного штаму *Candida albicans*, звичайного вірусу *Herpes vulgaris I.* та високо реплікативного штаму *ВІЛ-1zmb.*

10. Вживання ХГМК-F спроводжується детоксикаційним ефектом – сприяє зменшенню вмісту в крові «уремічних токсинів» – сечовини і креатиніну (відповідно у 2 і 2,4 рази), які є маркерами токсикозу, що супроводжує гостру променевою хворобу.

11. ХГМК-F можна розглядати як перспективний субстрат для принципово нових ентеросорбентів з широким спектром детоксикаційної дії, що не порушують водно-сольовий обмін і придатні до тривалого застосування.

12. Результати виконаних досліджень свідчать про перспективність використання комплексів біополімерів з *Aphyllophorales* як основи для захисних препаратів за дії високих доз опромінення (ЛД_{50/30}) і препаратів-адаптогенів для протидії наслідкам тривалого впливу малих доз іонізуючих випромінювань низької інтенсивності.

СПИСОК РОБІТ ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ:

Монографії

1. Сенюк Ольга. Иммунологический диагноз и оптимизация лечения / **Ольга Сенюк**, Томаш Гергей. — К : Наукова думка, 1993. – 342 с. (Здобувач описала концептуальну і фізичну моделі імунної системи, стереотипи лабораторної діагностики та побудови імунологічного діагнозу).

2. Nuclear Power Plants / N. Rashydov, O. Kliuchnikov, **O. Seniuk**, L. Gorovyy, A. Zhidkov, V. Ribalka, V. Berezhna, N. Bilko, V. Sakada, D. Bilko, I. Borbuliak, V. Kovalev, M. Krul, G. Petelin ; ed. by S. H. Chang. – Croatia : INTECH, 2012. – P. 231–278. (Здобувач описала всі дослідження на лінійних мишах).

3. Chitosan per os: from dietary supplement to drug carrier / L. Gorovoj, **O. Senyuk**, G. Beketova N. Savichuk, G. Amambaeva ; ed. by R. A. A. Muzzarelli. – Ancona : Atec, 2000. – P. 201–221. (Здобувач підготувала хітин-меланін-глюкановий комплекс для клінічного випробування, написала англійську версію матеріалів публікації).

4. Chitosan in pharmacy and chemistry / L. Gorovoj, **O. Senyuk**, G. Beketova, N. Savichuk, P. Tarasenko, A. Savichuk, N. Alexeenko, K. Senyuk, I. Bulgakova ; ed. by R. A. A. Muzzarelli, C. Muzzarelli. – Ancona : Atec, 2002. – P. 151–155. *(Здобувач підготувала меланін-глюкановий комплекс для дослідження, написала англійську версію матеріалів публікації).*

Статті у фахових виданнях України

5. Сенюк О. Ф. Адаптаційні реакції периферичної крові у персоналу об'єкту «Укриття» в залежності від накопиченої дози зовнішнього гамма-опромінення / **О. Ф. Сенюк** // Гематологія і переливання крові. – 1998. – Вип. 29. – С. 121–126.

6. Вікові особливості змін скорочувальних судинних реакцій і вміст вільних радикалів кисню та метаболітів оксиду азоту у мишей лінії BALB/c за умов перебування у зоні відчуження / М. М. Ткаченко, В. Ф. Сагач, О. В. Базілюк, А. В. Коцюба, Г. М. Поперека, Л. Г. Степаненко, **О. Ф. Сенюк** // Фізіологічний журнал. – Т. 51, № 3. – 2005. – С. 32–41. *(Здобувач здійснила опромінення тварин, виконала дозиметричну частину роботи).*

7. Аутоиммунный гепатит как результат хронического облучения малыми дозами радиации / **О. Сенюк**, В. Ковалев, Н. Круль, В. Жежера // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Біологія. – 2010. – Вип. 27. – С. 5–9. *(Здобувач спланувала і організувала виконання експериментальної частини роботи, підготувала публікацію до друку).*

8. Біологічна індикація впливу виробничих умов на персонал ДСП по поводженню з радіоактивними відходами і дезактивації «Комплекс» у зоні відчуження ЧАЕС / Л. В. Тарасенко, Т. В. Циганок, Л. К. Бездробна, Ю. О. Носач, **О. Ф. Сенюк** // Ядерна фізика та енергетика. – 2013. – Т. 14, № 1. – С. 75–80. *(Здобувач організувала обстеження персоналу ДСП «Комплекс», охарактеризувала спектр виробничих шкідливостей).*

9. Влияние меланин-глюканового комплекса, выделенного из грибов трутовика, на продолжительность самок мышей линии ICR / **О. Ф. Сенюк**, Л. Ф. Горовой, Л. А. Паламар Н. И. Круль // Проблемы старения и долголетия. – 2014. – Т. 23, № 1. – С. 11–27. *(Здобувач спланувала експеримент, підготувала рукопис публікації до друку).*

10. Сенюк О. Внесок «ефекту свідка» в ушкодження клітинної ДНК у опроміненних мишей BALB/c / **О. Сенюк**, В. Ковальов, Л. Паламар // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. – 2014. – Т. 17, № 1. – С. 40–43. *(Здобувач спланувала експеримент, підготувала рукопис публікації до друку).*

11. Радіопротекторний вплив на ДНК мишей комплексів біополімерів з трутовика *Fomes fomentarius* за дії іонізуючих випромінювань у малих дозах / **О. Ф. Сенюк**, Л. Ф. Горовой, Л. А. Паламар М. І. Круль // Ядерна фізика та енергетика. – 2014. – Т. 15, № 1. – С. 73–81. *(Здобувач спланувала експеримент, підготувала рукопис публікації до друку).*

12. Радіозахисні ефекти меланін- глюкан-хітинового комплексу з трутовика *Fomes fomentarius* і індраліну при опроміненні мишей BALB/c дозою 5,95 Гр/8,5 хв / **О. Ф. Сенюк**, О. В. Ковальов, Л. А. Паламар, М. І. Круль, Л. Ф. Горовой // Ядерна

фізика та енергетика. – 2014. – Т. 15, № 2. – С. 178–188. *Здобувач спланувала експеримент, підготувала рукопис публікації до друку).*

Статті у наукових виданнях інших країн, які включені в наукометричні бази даних Science Index

13. Сенюк О. Ф. Стратегия и тактика радиологической защиты персонала в связи с предстоящими работами по стабилизации и реорганизации объекта «Укрытие» в радиационно безопасную систему / **О. Ф. Сенюк**, В. М. Данилов // Радиационная биология. Радиоэкология. – 1999. – Т. 39, № 2-3. – С. 227–237. *(Здобувач описала концептуальну основу радіаційного захисту персоналу, охарактеризувала спектр шкідливостей об'єкта «Укриття»).*

14. Long-term effects of low-dose irradiation on human health / **Olga F. Senyuk**, Vadim M. Kavsan, Werner E.G. Müller, Heinz C. Schröder // Cellular and Molecular Biology. – 2002. – Vol. 48, # 3. – P. 211–220. *(Здобувач описала результати обстеження персоналу об'єкта «Укриття»).*

15. Защита генома человека от низкоинтенсивного радиационного и химического факторов / **О. Ф. Сенюк**, Л. Ф. Горовой, В. П. Курченко, Н. В. Курченко, В. А. Ковалев, Л. А. Паламарь, Г. Шрьодер, В. Мюллер // Экологическая антропология. Ежегодник: сб. научн. трудов основ. 1996 г. / ред. Е. Ф. Конопля. – Минск : Белорусский комитет «Дзеці Чарнобыля». – 2005. – С. 205–209. *(Здобувач організувала дослідну частину роботи, підготувала матеріал публікації до друку).*

16. Сосудистая реактивность и метаболизм реактивных форм кислорода и азота при действии низких доз радиации / М. Н. Ткаченко, А. В. Коцюруба, О. В. Базылюк, С. А. Таланов, Г. М. Погиряка, **О. Ф. Сенюк**, В. Ф. Сыч // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2009. – Т. 49, № 49. – С. 462–472. *(Здобувач здійснила опромінення дослідних мишей, виконала і описала дозиметричну частину роботи).*

17. Ковалев В. А. Состояние толерантности в условиях воздействия ионизирующих излучений «чернобыльского спектра» / В. А. Ковалев, **О. Ф. Сенюк** // Экологический вестник. Минск. Беларусь. – 2008. – № 3. – С. 36–43. *(Здобувач організувала виконання експерименту, підготувала матеріал публікації до друку).*

18. AntiInfective Properties of Melanin-Glucan Complex Obtained from Medicinal Tinder Bracket Mushroom, Fomes fomentarius (L.: Fr.) Fr. (Aphyllphoromycetidae) / **O. F. Seniuk**, L. F. Gorovoj, G. V. Beketova, N. O. Savichuk, P. G. Rytik, I. I. Kucherov, A. B. Prilutskaya, A. I. Prilutsky // Int. J. Medicinal Mushrooms. – 2011. – Vol. 13, # 1. – P. 7–18. *(Здобувач підготувала і передала комплекси грибних біополімерів для апробації, описала біологічні активності меланін-глюканового комплексу з F. fomentarius).*

19. Дистанционная передача сигналов лучевого поражения в межклеточном пространстве в организме у мышей с различным уровнем генетически детерминированной радиочувствительности / **О. Ф. Сенюк**, В. А. Ковалев, Н. И. Круль, А. В. Жидков, Г. Ф. Чемерский, С. С. Киреев, Л. Ф. Горовой,

Т. Гергей // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2013. – Т. 53, № 1. – С. 33–46. *(Здобувач організувала дослідну частину роботи, підготувала матеріал публікації до друку).*

20. Особенности и возможность химической модификации поведенческих реакций в приподнятом крестообразном лабиринте хронически облученных мышей с различной генетически детерминированной радиочувствительностью / **О. Ф. Сенюк**, Л. Ф. Горовой, В. А. Ковалев, Л. А. Паламар, А. В. Жидков, Г. Ф. Чемерский, С. С. Киреев, С. И. Киреев, И. В. Хатунцева // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2013. – Т. 53, № 2. – С. 170–182. *(Здобувач спланувала і організувала дослідну частину роботи, підготувала матеріал публікації до друку).*

Патенти :

21. Пат. 94311486 Україна, G01N33/53 Спосіб визначення стану макроорганізму / **Сенюк О. Ф.**, Гергей Томаш; заявитель і власники патенту Сенюк О. Ф., Гергей Томаш – № 9772; заявл. 16.11.90; опубл. 30.09.96, Бюл. № 3. – 34 с.

22. Szabadalmi leiras. 3986/90 Hungary. Eljaras human szervezetec immunological allapotanak meghata rozasara / Gergely Tamas, **Seniuk Olga**. – # 206233 B; a bejelentes napja 26.06.90; a kozzetetel napja 28.05.92; a megadas meghirdetesenec datuma a Szabadalmi Kozlonyben; 28. 09.92. SZKV 92/09.

Статті в інших наукових виданнях України:

23. Обоснование фармакотерапии детей с поражением верхних отделов пищеварительного тракта / Н. О. Савичук, Г. В. Бекетова, Л. Ф. Горовой, **О. Ф. Сенюк** // Фармакологічний вісник. – 1999. – № 4. – С. 38–44. *(Здобувач підготувала і передала комплекси грибних біополімерів для апробації, описала біологічну активність хітин-меланін-глюканового комплексу).*

24. Сенюк О. Ф. Исследование биопрепаратов Микотон и Виватон в качестве адаптогенов к повышенному радиационному облучению / **О. Ф. Сенюк** // Проблемы Чернобиля. – 1999. – Вып. 4. – С. 78–82.

25. Сенюк О. Ф. Сочетанные эффекты интенсивных радиационных полей и дискомфортных условий труда объекта «Укрытие» на показатели периферической крови / **О. Ф. Сенюк** // Проблемы Чернобиля. – 1999. – Вып. 4. – С. 83–85.

26. Сенюк О. Ф. Особенности организации медицинского сопровождения работ по стабилизации Объекта «Укрытие» и его реорганизации в экологически безопасную систему / **О. Ф. Сенюк** // Атомна енергетика та промисловість України. – 1999. – № 1. – С. 43–46.

27. Сенюк О. Ф. Радиопротекторы нового поколения для радиационной защиты персонала в условиях современного объекта «Укрытие» / **О. Ф. Сенюк**, Л. Ф. Горовой, В. М. Данилов // Проблемы Чернобиля. – 2001. – Вып. 7. – С. 219–229. *(Здобувач отримала експериментальні дані, підготувала матеріал публікації до друку).*

28. Сенюк О. Ф. Влияние условий труда на объекте «Укрытие» и ГСП «Комплекс» на формирование адаптационных реакций персонала / **О. Ф. Сенюк**, В. М. Данилов, Л. А. Чернова // Проблемы Чернобиля. – 2002. – Вып. 9. – С. 124–130. *(Здобувач отримала експериментальні дані, підготувала матеріал публікації до друку).*

29. Сенюк О. Ф. Информативность параметров гемато-иммунной системы для интегральной оценки изолирующих свойств средств защиты верхних дыхательных путей у работников Зоны отчуждения / **О. Ф. Сенюк** // Проблемы Чернобиля. – 2003. – Вип. 12. – С. 192–196.

30. Перспективы использования хитин-меланин-глюкан-содержащих материалов в мероприятиях радиационной защиты / **О. Ф. Сенюк**, Н. М. Мышковский, В. Г. Ивченко, Л. А. Паламарь, В. А. Ковалев, Л. Ф. Горовой, В. Н. Косяков, В. П. Курченко, Н. В. Сушинская, Н. В. Гавриленко // Проблемы Чернобиля. – 2004. – Вип. 14. – С. 151–156. *(Здобувач описала ХМГК як перспективну субстанцію з протипроменевими властивостями, підготувала матеріал публікації до друку).*

31. Влияние хитозана и меланин-глюканового комплекса на последствия острого гамма-облучения в малых дозах и стрессовой реакции / **О. Ф. Сенюк**, Л. Ф. Горовой, В. П. Варламов, П. Д. Тарасенко, В. А. Ковалев, Э. М. Пазухин // Проблемы Чернобиля. – 2004. – Вип. 15. – С. 121–126. *(Здобувач отримала експериментальні дані, підготувала матеріал публікації до друку).*

32. Радиосорбционные свойства хитин-меланиновых комплексов и перспективы их использования в радиационной защите / Л. Ф. Горовой, В. Н. Косяков, И. Е. Велешко, Н. Г. Яковлев, **О. Ф. Сенюк** // Проблемы безопасности атомных электростанций і Чернобиля. – 2005. – Вип. 3, Ч. 1. – С. 140–150. *(Здобувач підготувала хитин-меланін-глюкановий комплекс для досліджень, описала сорбційну активність різних видів ХМГК).*

33. Вплив малих доз радіації на судинну реактивність та окисний метаболізм кисню і азоту в серцево-судинній системі / М. М. Ткаченко, В. Ф. Сагач, О. В. Базілюк, А. В. Коцюруба, Г. М. Поперека, Л. Г. Степаненко, **О. Ф. Сенюк** // Журнал академії медичних наук України. – 2007. – Т. 13, № 1. – С. 20–32. *(Здобувач організувала і виконала експеримент по тривалому опроміненню мишей, здійснила дозиметричну частину роботи).*

34. Антиинфекционные свойства меланин-глюканового комплекса из высших грибов / **О. Ф. Сенюк**, Л. Ф. Горовой, В. А. Ковалев, В. П. Курченко, П. Г. Рытик, И. И. Кучеров // Наукові праці. – 2008. – Вип. 89, Т. 102. – С. 40–52. *(Здобувач спланувала експеримент, підготувала матеріал публікації до друку).*

35. Печінково-специфічний ліпопротеїн як можливий маркер ураження імунної толерантності під впливом низьких доз іонізуючих випромінювань / **О. Ф. Сенюк**, В. О. Ковальов, А. Г. Терентьев, А. А. Вісловух, А. Д. Вовк, І. В. Соляник // Український Радіологічний журнал. – 2012. – Т. 20, вип. 3. – С. 249–255. *(Здобувач спланувала і організувала виконання експерименту, підготувала публікацію до друку).*

36. Характер взаємодії опромінених і неопромінених клітин в культурі дифузійних камер *in vivo* / Д. І. Білько, **О. Ф. Сенюк**, І. З. Руссу, І. О. Жалейко, Н. М. Білько // Проблемы радіаційної медицини та радіобіології. – 2013. – Вип. 18. – С. 299–304. *(Здобувач спланувала, виконала і описала дозиметричну частину експерименту).*

Матеріали конференцій

37. Нормальные иммунологические показатели в зоне влияния аварийной ЧАЭС / **О. Ф. Сенюк**, Л. В. Задорожная, В. П. Конюшенко, В. И. Бобик, И. П. Дрозд, Н. Ф. Курочко // IV Междунар. научн.-техн. конф. [«Итоги 8 лет работ по ликвидации аварии на ЧАЭС» (Чернобыль-94), 16–21 сент. 1994 г., г. Чернобыль] : Сб. научн. трудов. –Т. 2 – Чернобыль: Минчернобыль Украины, НПО «Припять», Чернобыльский НТЦ междунар. исслед. – 1996. – С. 112–121. *(Здобувач спланувала, виконала і описала дозиметричну частину експерименту).*

38. Сенюк О. Ф. Протективная фармакокоррекция в радиационной защите человека / **О. Ф. Сенюк** // Проблемы Чернобиля: Сб. научн. трудов. конф. Междунар. Чернобыльского центра «Международное сотрудничество – Чернобылю». 14–16 окт. 1999г., г. Славутич. – 1999. – Вип. 5. – С. 391–397.

39. Ключников А. А. Роль человеческого фактора в реализации программы стабилизации и преобразования ОУ в экологически безопасную систему /А. А. Ключников, А. Б. Мазур, **О. Ф. Сенюк** // Научные и технические аспекты международного сотрудничества в Чернобиле. Сб. научн. стат. / ред. В. Н. Глыгало, А. В. Носовский. – Славутич : Укратомиздат. – 1999. – С. 230–237. *(Здобувач підготувала публікацію до друку).*

40. Сенюк О. Ф. Использование хитинового препарата Микотон в качестве радиопротектора / **О. Ф. Сенюк**, Л. Ф. Горовой, И. А. Трутнева // Новые перспективы в исследованиях хитина и хитозана : сб. мат. Пятой Международной конференции, Москва – Щелково, 25–27 мая, 1999 г. / ред В. П. Варламов. – Москва : ВНИРО, 1999. – С. 193–197. *(Здобувач виконала дослід, підготувала публікацію до друку).*

41. Сенюк О. Ф. Восстановление психо-эмоциональной сферы и гемато-иммунной системы персонала после выполнения радиационно-напряженных работ со стрессовой компонентой / **О. Ф. Сенюк**, В. М. Данилов, В. Е. Вторников // Наукові та технічні аспекти міжнародного співробітництва в Чорнобилі : зб. наук. стат. засн. у 1999 р. / ред В. М. Глигало, А.В. Носовський. – Київ : Вища школа, 2000. – Вип. 2. – С. 519–521. *(Здобувач виконала дослідну частину роботи, підготувала публікацію до друку).*

42. Исследование комбинированного воздействия смешанного низкодозного β - и γ -облучения на фоне стрессовой реакции в эксперименте / **О. Ф. Сенюк**, В. М. Данилов, Л. Ф. Горовой, П. Д. Тарасенко, И. В. Булгакова, В. А. Ковалев, А. В. Семенюченко // Наукові та технічні аспекти міжнародного співробітництва в Чорнобилі : зб. наук. стат. засн. у 1999 р. / ред В. М. Глигало, А. В. Носовський. – Київ : Вища школа, 2001. – Вип. 3. – С. 636–643. *(Здобувач виконала дослідну частину і підготувала публікацію до друку).*

43. Gorovoj L. Antiradiation pharmacological protection of the «Shelter» / L. Gorovoj, V. Danilov, **О. Seniuk** / Наукові та технічні аспекти міжнародного співробітництва в Чорнобилі : зб. наук. стат. засн. у 1999 р. ред В. М. Глигало, А. В. Носовський. – Київ: Політехніка, 2001. – Вип. 4. – С. 370–372. *(Здобувач виконала дослідну частину роботи, підготувала публікацію до друку).*

44. Особенности биоэлектрической активности головного мозга, психо-эмоциональной сферы, цитокиновой сети и системы биогенных аминов в условиях длительного воздействия комплекса факторов объекта «Укрытие» / С. И. Табачников, В. В. Штенгелов, В. М. Данилов, **О. Ф. Сенюк**, В. Н. Оськина : IV Міжнар. наук.-практ. конф. [«Об'єкт «Укриття», 15 років: минуле, сучасне, майбутнє»], 27-30 лист. 2001 р. // Проблемы Чернобиля. – 2002. – Вип. 10, Ч. II. – С. 252–261. (Здобувач дослідила стан цитокинової сітки, підготувала публікацію до друку).

45. Senyuk O. Experience derived from the long-term follow-up of the population in Chernobyl district / **O. Senyuk** : A Magyar honvedseg egeszsegugyi szlгалata es a Magyar katonai katasztrofaorvostani tarsasag lapja. [KULONNYOMAT]. 20-22.09.2000. // HONVEDORVOS. – Budapest, 2000. – Vol. 52, # 3–4. – P.168–186.

46. The chitin-containing preparation Mycoton in a pediatric / L. Gorovoj, **O. Senyuk**, G. Beketova, G. Amanbaeva / Proc. 3rd Intern. Conf. European Chitin Society, Potsdam, Germany, Aug. 31–Sept. 3, 1999. / ed. by M. G. Peter, A Domard, R. A. A. Muzzarelli. – Potsdam : Universitat Potsdam, 2000. – Vol. 4. – P. 280–287. (Здобувач виконала дослідну частину роботи, підготувала публікацію до друку).

47. Genome protection properties of the chitin-containing preparation Mycoton / **O. F. Senyuk**, L. F. Gorovoj, A. V. Zhidkov, V. Kovalev, L. Palamar, V. Kurchenko, N. Kurchenko, H-Ch. Schroeder / Advances in Chitin Science. Proc. of 6th Intern. Conf. European Chitin Society, Poznan, Poland Aug. 31–Sept. 3, 2004. ed. by H. Struszczyk, M. G. Peter, A Domard. – Poznan : ESUS, 2005. – Vol. VIII. – P. 430–439. (Здобувач виконала дослідну частину роботи, підготувала публікацію до друку).

48. Состояние генома человека при низкоинтенсивных экологических воздействиях / **О. Ф. Сенюк**, С. Б. Мельнов, П. Г. Рытик Н. Г. Кручин : матеріали наук.-практ. конф. [«Парадигми сучасної радіобіології. Радіаційний захист персоналу об'єктів ядерної енергетики»], 27 вер.–1 жовт., 2004 р., Київ, Чорнобиль // Проблемы безопасности атомных электростанций і Чернобиля. – 2005. – Вип. 3, Ч. 1. – С. 122–126. (Здобувач спланувала і організувала виконання експериментальної частини роботи, підготувала публікацію до друку).

49. Сенюк О. Ф. Радиационная защита персонала действующих АЭС и объекта «Укрытие», существующие проблемы, стратегия и тактика их решения сегодня / **О. Ф. Сенюк**, В. А. Краснов, В. М. Данилов : матеріали наук.-практ. конф. [«Парадигми сучасної радіобіології. Радіаційний захист персоналу об'єктів ядерної енергетики»], 27 вер.– 1 жовт., 2004 р., Київ, Чорнобиль // Проблемы безопасности атомных электростанций і Чернобиля. – 2005. – Вип. 3, ч. 1. – С. 9–23. (Здобувач спланувала і організувала виконання експериментальної частини роботи, підготувала публікацію до друку).

50. Антиоксидантные и генопротекторные свойства природных меланиновых пигментов / В. П. Курченко, **О. Ф. Сенюк**, Л. Ф. Горовой, Н. В. Сушинская, Г. Х. Шредер, В. Мюллер : материалы Междунар. научн. конф. [«Биохимия биологически активных соединений»], 16–18 нояб. 2005 г., Минск // Биохимия. Минск : РИВШ, 2005. – С. 86–93. (Здобувачкою підготовано матеріал про ДНК-захисну дію меланінів).

51. Хитозан и меланин-глюкановый комплекс в защите от последствий гамма-облучения / **О. Ф. Сенюк**, Л. Ф. Горовой, В. П. Варламов : Материалы Восьмой Международной конференции [Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана], 12–17 июн. 2006 г., г. Казань. – Москва : ВНИРО, 2006. – С. 243–248. (*Здобувач спланувала і організувала виконання дослідної частини роботи, підготувала публікацію до друку*).

52. Анतिретровирусная активность некоторых видов высших базидиальных грибов / П. Г. Рытик, Л. Ф. Горовой, Кучеров И. И., **О. Ф. Сенюк**, Л. О. Мистрюкова : материалы 15-ой междунар. конф. [«СПИД, рак и общественное здоровье»], 22–26 мая, 2006, г. Санкт-Петербург // Русский журнал «СПИД, рак и общественное здоровье». – 2007. – Т. 11, № 1. – С. 59–60. (*Здобувач підготувала і передала меланін-глюкановий комплекс для дослідження антиретровірусної активності*).

53. Genome protection properties of the melanin-containing complexes from the Higher Basidiomycetes. Current problems of radiation research / **О. Senyuk**, L. Gorovoj, V. Kurchenko, V. Kovalev, L. Palamar, H-Ch. Schroeder / Proc. of 35th Annual Meeting of the European Radiation Research Society [Current problems of radiation research], Kiev, Ukraine, Aug 23–25, 2006 : ed. by D. Grodzinsky, A. Dmitriev. – Kiev, 2007. – P. 224–239. (*Здобувач виконала експериментальну частину роботи, переклала текст роботи на англійську мову, підготувала публікацію до друку*).

54. Anticarcinogenic Properties of Melanin-Glucan complex from Higher Fungi / **Olga F. Seniuk**, Leontiy F. Gorovoj, Vasilij A. Kovalev, Larisa A. Palamar, Nikolay I. Krul, Vladimir P. Kurchenko / Proc. of the 5th International Medicinal Mushroom Conference, 5th–8th Sept. 2009, China, Nantong. : ed. by Wasser S. P. – Nantong, 2009. – P. 142–149. (*Здобувач виконала експериментальну частину роботи, підготувала публікацію до друку*).

АНОТАЦІЯ

Сенюк О. Ф. Радиобіологічні ефекти в організмі і принципи його захисту від шкідливих наслідків іонізуючого опромінення. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.01 – радіобіологія. – Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ, 2015.

Дисертація присвячена вивченню розвитку радіаційного ураження на різних рівнях організації організму ссавців, у тому числі людини, за різних умов і видів опромінення (гострого, хронічного, зовнішнього і внутрішнього) та дослідженню захисної здатності комплексів грибних біополімерів.

На моделі лінійних мишей з різним рівнем генетично обумовленої радіочутливості (BALB/c і C57BL/6) за умов гострого і хронічного зовнішнього опромінення та при інкорпорації ¹³⁷Cs, а також для осіб, що опромінюються професійно (персонал об'єкта «Укриття», Державного спеціалізованого підприємства «Комплекс» і Виробничого об'єднання «Рівненська АЕС») та

самопоселенців Зони відчуження і безумовного (обов'язкового) відселення встановлено несприятливий вплив іонізуючих випромінювань в малих дозах за змінами в структурі ДНК (додаткові рівні одониткових розривів, «ефект свідка» і ушкодження репараційних процесів), зменшенням функціональних можливостей тканин, відповіддю різних систем (імунної, репродуктивної і нервової), адаптивною реакцією організму та зниженням тривалості життя. Сформульовано і експериментально підтверджено концепцію та основні принципи захисту від іонізуючих випромінювань, в якості перспективних засобів захисту від радіації запропоновано комплекси біополімерів (хітин, β -глюкани і меланіни) з трутовика *Fomes fomentarius*.

Ключові слова: радіобіологічні ефекти, одониткові розриви ДНК, «ефект свідка», кістковий мозок, поведінкові реакції, тривалість життя, адаптаційні реакції, аутоімунітет, радіопротектори, трутовика.

SUMMARY

Seniuk O. F. Radiobiological effects in the organism and the principles of its protection from the negative consequences of the ionizing radiation. – Manuscript.

Dissertation thesis is submitted for the scientific degree of the doctor of biological sciences on specialty 03.00.01 – radiobiology. – National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, 2015.

The thesis is devoted to the study of the radiation injury development at the different levels of the biological organization of the mammal organism including human organism under different conditions and types of the radiation (acute, chronic exposure, external and internal radiation). Also the protective effect of the complexes of the fungi biopolymers was investigated during this study. Linear mice with different levels of the genetically determined radiosensitivity (BALB/c and C57BL/6) under the acute and chronic external exposure and the ^{137}Cs incorporation, persons radiated by the work conditions (the staff of the «Shelter» object, State Specialized Enterprise «Complex» and Industrial Association «Rivne NPP»), and the self settlers of the Exclusion Zone and unconditional (obligatory) resettlement were investigated. In the result of this study negative influence of the ionizing radiation of low doses was found that revealed in the changes of the DNA structure (the formation of the single-strand DNA breaks, the induction of the «bystander effect», the defection of the DNA repair processes), the decrease of the tissue functional abilities and the response of the different organ systems (immune, reproductive and nervous systems), the general adaptive reaction of the organism and the lifespan reduction. The concept and basic principles of the defense against the negative effect of the ionizing radiation have been developed and experimentally proved. It has been proposed to use the fungi biopolymers complexes (chitin, melanin and β -gliucan) from the tinder *Fomes fomentarius* as perspective protection means.

Keywords: radiobiological effects, single-strand DNA breaks, «bystander effect», bone marrow, behavioral responses, lifespan, adaptation reactions, autoimmunity, radioprotectors, tinder.

АННОТАЦИЯ

Сенюк О. Ф. Радиобиологические эффекты в организме и принципы его защиты от негативных последствий ионизирующего облучения. – На правах рукописи.

Диссертация посвящена изучению развития радиационного поражения на разных уровнях строения организма млекопитающих, в том числе организма человека, в условиях острого и хронического воздействия, внешнего и внутреннего облучения, а также исследованию радиозащитного эффекта субстратов из грибных биополимеров (хитина, β -глюканов и меланинов) на молекулярно-генетическом и системном уровнях организации организма и в зависимости от выраженности генетической радиочувствительности.

Выполнено комплексное экспериментальное исследование формирования радиобиологических эффектов в организме: от ДНК-тропных воздействий (индукция дополнительных уровней одностранных разрывов ДНК, изменения ее нативности, проявление «эффекта свидетеля», повреждение репарационных процессов ДНК) до системных реакций организма на уровне иммунной, нервной и репродуктивной функций, а также адаптационных реакций и продолжительности жизни.

В результате исследований разработаны и экспериментально обоснованы концепция и основные принципы защиты организма от негативных последствий радиации, которые базируются на: 1) ограничении уровня депонирования радионуклидов; 2) уменьшении содержания активных форм кислорода и азота, продуктов перекисного окисления липидов; 3) защите от окислительного стресса структурной целостности ДНК и генома в целом и предупреждении повреждения репарационных систем ДНК в частности; 4) стимуляции процессов репарации и репопуляционном возобновлении общей клеточной массы и функциональных возможностей тканей, мобилизации их ресурсных возможностей; 5) повышении активности эндогенного фона радиорезистентности. Исследованы линейные мыши с альтернативной генетически обусловленной радиочувствительностью (BALB/c и C57BL6) в условиях острого и хронического внешнего облучения и при инкорпорации больших активностей, обусловленных ^{137}Cs , а также обследованы профессионально облучаемые лица (персонал объекта «Укрытие», Государственного специализированного предприятия «Комплекс» и Производственного объединения «Ровенская АЭС») и самоселы Зоны отчуждения и безусловного (обязательного) отселения. Установлено неблагоприятное влияние радиации в малых дозах на структуру ДНК, функциональные возможности тканей, разные системы (иммунную, репродуктивную, нервную), адаптационные реакции организма и продолжительность жизни. Показано, что высокие (\sim ЛД_{50/30}) и малые (0,29 Гр/231 сутки) дозы внешнего облучения, а также инкорпорация ^{137}Cs у линейных мышей вызывали повышение уровней одностранных разрывов ДНК в клетках различного генеза. После облучения клетки обретали способность генерировать ДНК-токсичные продукты свободно-радикального характера для необлученных соседних клеток. При остром облучении у более чувствительных к действию радиации мышей (линия BALB/c) максимум репарационных процессов

в ДНК был сдвинут на 3 часа по сравнению с более устойчивыми к радиации C57BL/6 мышами. На пике накопления ^{137}Cs исчезали явные признаки репарации ДНК в клетках более радиочувствительных BALB/c мышей, одновременно у C57BL/6 мышей проявления максимальной активности репарации по сравнению с острым облучением задерживались на 3 часа

Получены данные о более эффективном ингибировании стволовых кроветворных клеток костного мозга BALB/c мышей в условиях хронического облучения (0,29 Гр/231 сутки) и внутреннего облучения ^{137}Cs (с достижением активности в теле мыши ~20 кБк/74 суток) по сравнению с введением цитостатика циклофосамида. С помощью показателя активности в крови внутриклеточного фермента аланинаминотрансферазы, сывороточных уровней антител к печеночно-специфическому липопротеину и характерной патоморфологической картины этого органа показана гибель клеточных популяций под влиянием радиации в малых дозах (0,1 мГр/100 суток) в некротическом органе – печени.

Пожизненное облучение мышей с достижением суммарной дозы внешнего γ -облучения 0,54 Гр для BALB/c мышей и 0,72 Гр для C57BL/6 мышей сопровождалось сокращением продолжительности жизни соответственно на 25 и на 14 %. Одновременно снижались показатели репродуктивной функции и ухудшалась показатели поведенческих реакций.

Меланины из *Aphyllorphorales* обладают мощными окислительно-восстановительными свойствами, которые обусловлены их способностью существовать в окисленной (хиноновой) и восстановленной (гидрохиноновой) формах и определяют их антиоксидантные, радио- и фотопротекторные и электронно-ионообменные активности. Грибной хитин обладает мощными сорбционными свойствами относительно ионов редкоземельных металлов и трансурановых элементов, а также активно уменьшает содержание в крови мочевины и креатинина. Бета-глюканы известны как сильные иммуномодуляторы. Апробированные комплексы биополимеров были эффективны при разных видах и способах облучения. Фактор защиты при остром общем внешнем воздействии на BALB/c мышей в изоморфных полях с накоплением дозы 5,95 Гр/ 8,5 мин для индралина составил 0,33, а для меланин-глюканового комплекса из *F. fomentarius* он был в 2,3 раза выше (0,75).

Наличие природных легковозобновляемых источников для получения исследованных комплексов биополимеров (широко распространенный в Украине трутовик *F. fomentarius*) и методики определения варибельности индивидуальной радиочувствительности человека на основе цитогенетического обследования с использованием G2-теста позволят в принципе решить проблему защиты от хронического воздействия ионизирующих излучений.

Ключевые слова: радиобиологические эффекты, однонитевые разрывы ДНК, «эффект свидетеля», костный мозг, поведенческие реакции, продолжительность жизни, адаптационные реакции, аутоиммунитет, радиопротекторы, трутовики.