

# Медико-биологические проблемы жизнедеятельности

Научно-практический рецензируемый журнал

№ 1(15)  
2016 г.

## Учредитель

Государственное учреждение  
«Республиканский научно-  
практический центр  
радиационной медицины  
и экологии человека»

## Журнал включен в:

- Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования диссертационных исследований по медицинской и биологической отраслям науки (31.12.2009, протокол 25/1)
- Перечень журналов и изданий ВАК Минобрнауки РФ (редакция май 2012 г.)

## Журнал зарегистрирован

Министерством информации  
Республики Беларусь,  
Свид. № 762 от 6.11.2009

Подписано в печать 08.04.16.  
Формат 60×90/8. Бумага мелованная.  
Гарнитура «Times New Roman».  
Печать цифровая. Тираж 200 экз.  
Усл. печ. л. 25,87. Уч.-изд. л. 14,03.  
Зак. 32.

Издатель ГУ «Республиканский  
научно-практический центр  
радиационной медицины и экологии  
человека»  
ЛИ № 02330/619 от 3.01.2007 г.  
Продлена до 03.01.2017

Отпечатано в КУП  
«Редакция газеты  
«Гомельская праўда»  
г. Гомель, ул. Полесская, 17а

ISSN 2074-2088

## Главный редактор, председатель редакционной коллегии

А.В. Рожко (д.м.н., доцент)

## Редакционная коллегия

В.С. Аверин (д.б.н., зам. гл. редактора), В.В. Аничкин (д.м.н., профессор), В.Н. Беляковский (д.м.н., профессор), Н.Г. Власова (д.б.н., доцент, научный редактор), А.В. Величко (к.м.н., доцент), И.В. Веякин (к.б.н.), В.В. Евсеенко (к.п.с.н.), С.В. Зыблева (к.м.н., отв. секретарь), С.А. Игумнов (д.м.н., профессор), А.В. Коротаев (к.м.н.), А.Н. Лызикив (д.м.н., профессор), А.В. Макавич (к.м.н., доцент), С.Б. Мельнов (д.б.н., профессор), Э.А. Надьров (к.м.н., доцент), И.А. Новикова (д.м.н., профессор), Э.Н. Платошкин (к.м.н., доцент), Э.А. Повелица (к.м.н.), Ю.И. Рожко (к.м.н., доцент), М.Г. Русаленко (к.м.н.), А.Е. Силин (к.б.н.), А.Н. Стожаров (д.б.н., профессор), А.Н. Цуканов (к.м.н.), Н.И. Шевченко (к.б.н.)

## Редакционный совет

В.И. Жарко (министр здравоохранения Республика Беларусь, Минск), А.В. Аклеев (д.м.н., профессор, Челябинск), С.С. Алексанин (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Д.А. Базыка (д.м.н., профессор, Киев), А.П. Бирюков (д.м.н., профессор, Москва), Е.А. Богдан (Минск), Л.А. Бокерия (д.м.н., академик РАН и РАМН, Москва), А.Ю. Бушманов (д.м.н., профессор, Москва), И.И. Дедов (д.м.н., академик РАМН, Москва), Ю.Е. Демидчик (д.м.н., член-корреспондент НАН РБ, Минск), М.П. Захарченко (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Л.А. Ильин (д.м.н., академик РАМН, Москва), К.В. Котенко (д.м.н., профессор, Москва), В.Ю. Кравцов (д.б.н., профессор, Санкт-Петербург), Н.Г. Кручинский (д.м.н., Минск), Т.В. Мохорт (д.м.н., профессор, Минск), Д.Л. Пиневиц (Минск), В.Ю. Рыбников (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Н.Д. Тронько (д.м.н., профессор, Киев), В.А. Филонюк (к.м.н., доцент, Минск), Р.А. Часнойть (к.э.н., Минск), В.Е. Шевчук (к.м.н., Минск), В.Д. Шило (Минск)

## Технический редактор

С.Н. Никонович

## Адрес редакции

246040 г. Гомель, ул. Ильича, д. 290,  
ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ», редакция журнала  
тел (0232) 38-95-00, факс (0232) 37-80-97  
<http://www.mbp.rcrm.by> e-mail: [mbp@rcrm.by](mailto:mbp@rcrm.by)

© Государственное учреждение  
«Республиканский научно-практический  
центр радиационной медицины и  
экологии человека», 2016

№ 1(15)

2016

# Medical and Biological Problems of Life Activity

Scientific and Practical Journal

**Founder**

Republican Research Centre  
for Radiation Medicine  
and Human Ecology

Journal registration  
by the Ministry of information  
of Republic of Belarus

Certificate № 762 of 6.11.2009

© Republican Research Centre  
for Radiation Medicine  
and Human Ecology

**ISSN 2074-2088**

### ***30 лет после аварии на Чернобыльской атомной электростанции***

- Е.Л. Богдан, А.В. Рожко**  
30-летний опыт организации и оказания медицинской помощи населению, пострадавшему в результате катастрофы на ЧАЭС 7
- С.С. Алексанин, С.В. Дударенко**  
Отдаленные медицинские последствия аварий на ЧАЭС 15
- Н.Г. Власова**  
Переход от зонирования радиоактивно загрязнённой территории к классификации населённых пунктов по средним годовым эффективным дозам облучения в отдалённом периоде после аварии на ЧАЭС 24
- А.В. Рожко, Э.А. Надыров, И.В. Веялкин, А.Н. Стожаров, Е.Л. Богдан, С.Н. Никонович, О.Ф. Семененко, О.Н. Захарова, Ю.В. Чайкова, А.А. Чешик**  
Медицинские последствия аварии на ЧАЭС в Республике Беларусь: 30 лет спустя 31
- И.К. Романович, Г.Я. Брук, А.Н. Барковский, А.А. Братилова, А.В. Громов**  
Критерии и требования по обеспечению перехода населенных пунктов, отнесенных в результате аварии на Чернобыльской АЭС к зонам радиоактивного загрязнения, к условиям нормальной жизнедеятельности населения 43

### ***Обзоры и проблемные статьи***

- С.С. Алексанин, Р.Ф. Федорцева, И.Б. Бычкова**  
К проблеме отдаленных последствий действия радиации. Особые клеточные эффекты и соматические последствия облучения в малых дозах 54
- О.П. Логинова, В.В. Клименок**  
Современные методы ранней диагностики рака шейки матки 62

### ***30 years after Chernobyl accident***

- E.L. Bogdan, A.V. Rozhko**  
30-years experience of medical care organization and provision to people affected by the Chernobyl accident
- S. Aleksanin, S. Dudarenko**  
Remote medical consequences of the accident at the Chernobyl nuclear power plant
- N.G. Vlasova**  
From zoning radioactive contaminated territories to classification of settlements at an average annual effective doses in remote period after the accident
- A.V. Rozhko, E.A. Nadyrov, I.V. Veyalkin, A.N. Stozharov, E.L. Bogdan, S.N. Nikonovich, O.F. Semenenko, O.N. Zakharova, Yu.V. Chaykova, A.A. Cheshik**  
Medical effects of Chernobyl disaster in the Republic of Belarus: 30 years after
- I.K. Romanovich, G.Ya. Bruk, A.N. Barkovsky, A.A. Bratilova, A.V. Gromov**  
Criteria and requirements for providing of the conversion of the settlements referred to the territories of radioactive contamination due to the Chernobyl accident to the conditions of the population normal life activity

### ***Reviews and problem articles***

- S.S. Aleksanin, R.F. Fedortseva, I.B. Bychkovskaya**  
The problem of remote effects of radiation. Special cell effects and somatic consequences of low doses exposure
- O.P. Loginova, V.V. Klimenok**  
Modern methods of the early detection of the cervical cancer

**С.И. Роговская, Н.Ю. Полонская, А.Ж. Гайдарава, М.И. Манжосова**  
Вторичная профилактика рака шейки матки 70

**S.I. Rogovskaya, N.Yu. Polonskaya, A.Zh. Gaydarova, M.I. Manzhosova**  
Secondary prophylaxis of cervical cancer

### *Медико-биологические проблемы*

### *Medical-biological problems*

**В.С. Аверин, К.Н. Бuzдалькин, Е.В. Копыльцова, Е.К. Нилова, Э.Н. Цуранков**  
Ожидаемые дозы внутреннего облучения жителей некоторых населённых пунктов Гомельской области 77

**V.S. Averin, K.N. Buzdalkin, E.V. Kopyltsova, E.K. Nilova, E.N. Tsurankov**  
<sup>90</sup>Sr ingestion and committed doses in population of Gomel region

**Л. Апончук, Т. Шевчук**  
Особенности центральной гемодинамики и электрической активности сердца у курящих женщин с разным стажем курения 82

**L. S. Aponchuk, T. Ya. Shevchuk**  
Peculiarities of central hemodynamics and electrical activity of the heart in female smokers with different smoking experience

**К.Н. Апсаликов, Т.И. Белихина, Б.Х. Алиев, М.К. Хакимов, Т.Ж. Мулдагалиев**  
Изучение динамики онкологической заболеваемости среди лиц, подвергавшихся прямому облучению в результате испытаний ядерного оружия на Семипалатинском полигоне, и их потомков 91

**K.N. Apsalikov, T.I. Belihina, B.H. Aliev, M.K. Hakimov, T.Z. Muldagaliev**  
Studying the dynamics of cancer incidence among those exposed to the direct radiation and their descendants, as a result of nuclear weapons tests at the Semipalatinsk test site

**А.А. Братилова**  
Облучение населения Российской Федерации, проживающего на территориях, пострадавших вследствие аварии на Чернобыльской АЭС 97

**A.A. Bratilova**  
The exposure of Russian Federation population, living in the territories affected due to the accident on Chernobyl NPP

**Л.А. Горбач**  
Туберкулез среди детского и подросткового населения наиболее пострадавших от Чернобыльской катастрофы районов Могилевской области 106

**L.A. Gorbach**  
Tuberculosis among children and adolescents living in areas of the Mogilev region most affected by the Chernobyl disaster

**В.В. Евсеенко, В.В. Дроздович, Е.В. Остроумова, В.Ф. Миненко, М. Хатч, О.Н. Полянская, А.В. Бреннер, И.В. Вейлкин, Э.А. Надьров, Л.С. Старостенко, А.В. Рожко, К. Мабучи**  
Формирование когорты лиц, облученных внутриутробно в Беларуси после аварии на Чернобыльской АЭС 113

**V. Yauseyenko, V. Drozdovitch, E. Ostroumova, V. Minenko, M. Hatch, O. Polyanskaya, A. Brenner, I. Veyalkin, E. Nadyrov, L. Starostenko, A. Rozhko, K. Mabuchi**

Construction of cohort of persons exposed in utero in Belarus following the Chernobyl accident

**В.В. Кляус, Е.В. Николаенко**  
Радиационно-гигиеническое обоснование размера санитарно-защитной зоны вокруг Белорусской АЭС 124

**V.V. Kliaus, A.U. Nikalayenka**  
Radiation-hygienic basement of the size of sanitary-protection zone around Belarusian NPP

- К.М. Литвинчук**  
Радиомодифицирующее влияние  
2-меркаптобензотиазола на клетки *in vitro* 131
- Л.Н. Эвентова, Д.Н. Дроздов, А.Н. Матарас,  
Е.А. Дрозд, Ю.В. Висенберг, Н.Г. Власова**  
Мониторинг доз внутреннего облуче-  
ния населения в отдалённом периоде  
после аварии на ЧАЭС 138

**Клиническая медицина**

- Т.В. Бобр**  
Факторы риска в развитии диабетиче-  
ской ретинопатии при переводе на ин-  
сулинотерапию 145

- Д.И. Гавриленко, Н.Н. Силивончик,  
Н.И. Шевченко, Ю.И. Ярец**  
Спектр возбудителей основных инфек-  
ционных осложнений у госпитализи-  
рованных пациентов с циррозом печени 150

- С.В. Зыблева, А.В. Величко, З.А. Дундаров,  
С.Л. Зыблев, В.В. Похожай, Т.С. Петренко**  
Нарушения иммунного статуса при  
первичном гиперпаратиреозе 157

- О.Н. Кононова, А.М. Пристром, Э.Н. Пла-  
тошкин, А.В. Коротаев, Е.П. Науменко,  
Н.В. Николаева, О.В. Зотова**  
Структурно-функциональные измене-  
ния сердца у беременных с метаболи-  
ческим синдромом 163

- А.В. Куроедов, Л.Д. Абышева, А.С. Алек-  
сандров, Н.А. Бакунина, А.С. Басинский,  
А.Ю. Брежнев, И.Р. Газизова, А.Б. Гали-  
мова, О.В. Гапонько, В.В. Гарькавенко,  
В.В. Городничий, М.С. Горшкова, А.А. Гу-  
саревич, Д.А. Дорофеев, П.Ч. Завадский,  
О.Г. Зверева, У.Р. Каримов, С.Н. Ланин,  
Дж.Н. Ловпаче, И.А. Лоскутов, Е.В. Молча-  
нова, В.Ю. Огородникова, О.Н. Онуфрий-  
чук, С.Ю. Петров, Ю.И. Рожко, Л.Б. Таш-  
титова, А.С. Хохлова, И.В. Шапошникова,  
А.П. Шахалова**  
Тактика ведения пациентов с первич-  
ной открытоугольной глаукомой на  
практике: варианты медикаментозно-  
го, лазерного и хирургического лечения 170

- K. M. Lytvynchuk**  
Radiomodifying influence 2-merkapto-  
benzotiazole on cells *in vitro*
- L.N. Eventova, D.N. Drozdov, A.N. Mataras,  
E.A. Drozd, Yu.V. Visenberg, N.G. Vlasova**  
The monitoring of internal exposure doses in  
populations in the remote period after the ac-  
cident at the Chernobyl nuclear power plant

**Clinical medicine**

- T.V. Bobr**  
Risk factors for diabetic retinopathy when  
translated into insulin

- D. Haurylenka, N. Silivontchik, N. Shevchenko,  
Y. Yarets**  
Spectrum of pathogens of major infec-  
tious complications in hospitalized cir-  
rhotic patients

- S. Zybleva, A. Velichko, Z.A. Dundarov, V. Po-  
hojai, S. Zyblev, T.S. Petrenko**  
Immune status disorders with the primary  
hyperparathyroidism

- O.N. Kononova, A.M. Prystrom, E.N. Pla-  
toschkin, A.V. Korotaev, E.P. Naumenko,  
N.V. Nikolaeva, O.V. Zotova**  
Early structural and functional features  
diagnosis of the heart, during pregnancy  
with metabolic syndrome

- A.V. .Kuroyedov, L.D. Abyшева, A.S. Al-  
exandrov, N.A. Bakunina, A.S. Basinsky,  
A.Yu. Brezhnev, I.R. Gazizova, A.B. Galimova,  
O.V. Gapon'ko, V.V. Garkavenko, V.V. Gorod-  
nichy, M.S. Gorshkova, A.A. Gusarevitch,  
D.A. Dorofeev, P.Ch. Zavadsky, M.A. Zakha-  
rova, O.G. Zvereva, U.R. Karimov, S.N. Lanin,  
Dzh.N. Lovpache, I.A. Loskutov, E.V. Molch-  
anova, V.Yu. Ogorodnikova, O.N. Onufriy-  
chuk, S.Yu. Petrov, Yu.I. Rozhko, L.B. Tash-  
titova, A.S. Khohlova, I.V. Shaposhnikova,  
A.P. Shahalova**  
Management of primary open-angle glau-  
coma in practice: variants of medical, la-  
ser and surgical treatment

---

<b>Э.А. Повелица, В.В. Аничкин</b> Естественные предпосылки возникновения органической эректильной дисфункции	186	<b>E. Povelitsa, V. Anichkin</b> Natural preconditions for development of organic erectile dysfunction	
<b>Е.А. Свистунова, Н.И. Шевченко, М.Г. Русаленко</b> Инфекционные осложнения, сопровождающие трансплантацию почки: проблемы и перспективы	195	<b>E. Svistunova, N. Shevchenko, M. Rusalenko</b> Infectious sequelae accompanying the kidney transplantation: problems and prospects	
<b>Обмен опытом</b>		<b>Experience exchange</b>	
<b>Е.К. Курлянская</b> Предикторы кардиальных событий и неблагоприятных клинических исходов у пациентов с ХСН I-IV ФК тяжести и сопутствующим сахарным диабетом в течение 12 месяцев наблюдения	204	<b>E.K. Kurlianskaya</b> Predictors of cardiac events and adverse clinical outcomes in patients with CHF FC I-IV severity and concomitant diabetes within 12 months of observation	
<b>Е. А. Слепцова, А. А. Гончар</b> Возможности сонографии, сцинтиграфии и магнитно-резонансной томографии в предоперационной диагностике опухолей и опухолеподобных образований парашитовидных желез	209	<b>E. Sleptsova, A. Gonchar</b> Possibility for ultrasonic study, scintigraphy and magnetic resonance tomography in preoperative diagnostics of tumors and tumor-like neoplasms of parathyroid glands	
Правила для авторов	217		

**РАДИОМОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ  
2-МЕРКАПТОБЕНЗТИАЗОЛА НА КЛЕТКИ *IN VITRO***

*<sup>1</sup>ГУ «Национальный научный центр радиационной  
медицины НАМН Украины», г. Киев, Украина*

Проведено экспериментальное исследование радиопротекторных свойств 2-меркаптобензтиазола в тест-системе культуры пролиферирующих клеток. При инкубации перевиваемых клеток линии L<sub>929</sub> с 2-меркаптобензтиазолом в диапазоне концентраций 0,03-3,00 мкг/мл не было выявлено статистически достоверного изменения ( $p \leq 0,05$ ) плотностной популяции в монослойных культурах. В то же время наблюдали для всех примененных концентраций реагента стимуляцию митотической активности на терминальной (5-е сутки) стадии культивирования. Облучение клеток гамма-квантами <sup>60</sup>Со в дозах 1, 5 и 10 Гр привело к дозозависимым морфофункциональным изменениям в культуре клеток. Облучение клеток в присутствии 2-меркаптобензтиазола существенно уменьшило негативное влияние радиации на показатели жизнеспособности клеток в культуре.

Количественная оценка радиомодифицирующих свойств 2-меркаптобензтиазола в тест-системе культуры клеток линии L<sub>929</sub> показала, что самые высокие показатели коэффициента защиты (0,31-0,36) реагент показал при концентрации 3 мкг/мл при облучении в дозе 1 Гр. В то же время фактор уменьшения дозы, рассчитанный по ЛД<sub>50</sub>, при концентрации 0,03 и 0,30 мкг/мл имел значение 1,5 и 1,8 соответственно, а при концентрации 3,00 мкг/мл ФУД был максимальным – 4. По совокупности данных литературы и результатов собственных исследований можно считать 2-меркаптобензтиазол реагентом с радиопротекторными свойствами для пролиферирующих клеток *in vitro*.

**Ключевые слова:** культура клеток, ионизирующее излучение, радиопротекторы, митоз, пролиферация, апоптоз

**Введение**

В будущем потребность в радиопротекторах возрастет в связи с освоением космоса, развитием ядерной энергетики и возможной войны с применением ядерного оружия и так называемых «грязных бомб». На сегодняшний день получены тысячи радиозащитных препаратов [1-3] и ведутся разработки новых, которые получают путем совершенствования структуры старых препаратов, а также поиском новых веществ, обладающих радиозащитным действием [4, 5].

Радиопротекторы относятся к разнообразным классам химических соединений. Известно, что механизмами действия химических модификаторов является изменение первичных радиационно-химических реакций, свободных радикалов и других про-

дуктов радиолиза, влияние на процессы репарации, на сублетальные и потенциально летальные повреждения клеток [6-9]. Радиозащитный эффект серосодержащих радиопротекторов, к которым принадлежит 2-меркаптобензтиазол (Мебентол) [10, 11], реализуется на клеточном уровне в результате быстрого освобождения в физиологических условиях сульфгидрильной группы. Как мощный восстановитель, такой радиопротектор может «перехватывать» и обезвреживать свободные перекисные радикалы, возникающие при облучении в присутствии кислорода; нормализовать возбужденные молекулы биосубстратов, предупреждая необратимые изменения, а также влиять на взаимодействие субстратов друг с другом, образуя комплексы с ионами двухвалентных металлов, которые являются катализа-

торами окислительных процессов; создавать смешанные дисульфиды с белками. При этом лучевая энергия расходуется на разрыв дисульфидной связи. Кроме этих начальных реакций большую роль играют изменения, которые происходят в более поздние периоды. Согласно существующим теориям о механизмах радиопротекторного действия [12], эти изменения развиваются вследствие взаимодействия радиопротектора с белками, нуклеопротеидами, специфическими рецепторами и другими жизненно необходимыми субстратами клеток. В результате наблюдаются сдвиги в клеточном метаболизме (угнетение биосинтеза и стабилизации ДНК, снижение активности ядерного и митохондриального фосфорилирования, митоза и т.д.). Однако эти изменения носят обратимый характер, а в послелучевом периоде восстанавливаются с повышенной интенсивностью. Все это обеспечивает высокую радиорезистентность тканей в период облучения и быструю регенерацию радиочувствительных тканей после облучения. Эффективность действия радиозащитных веществ оценивается по многим показателям. Стоит отметить, что жесткие требования к радиопротекторам касаются ионизирующего излучения в высоких дозах, острого облучения и 30-суточного периода наблюдения для организмов. Для количественной характеристики действия модификаторов, как правило, используют фактор уменьшения дозы (ФУД) и коэффициент защиты (Кз). Для определения указанных показателей используют ЛД<sub>50</sub>, ЛД<sub>37</sub> и ЛД<sub>0</sub>, количество одно- и двухнитевых разрывов ДНК, мутаций, хромосомных аберраций, опухолей, изменения радиочувствительности ферментов, мембранных процессов, поведенческие реакции, количество и характер эмбриональных нарушений и т.д. Таким образом, модификаторы влияют на разных уровнях биологической организации – от молекулярного до организменного.

**Цель работы** состояла в исследовании радиомодифицирующего влияния 2-меркаптобензтиазола в тест-системе культуры пролиферирующих клеток.

### **Материал и методы исследования**

Морфофункциональные изменения в клетках исследовали с использованием тест-системы культуры клеток линии L<sub>929</sub> (другое название NCTC-clone 929, Clone of strain L), которая была выделена в 1948 году из штамма L, который в свою очередь является одним из первых штаммов поддерживаемой культуры и наиболее исследуемым штаммом [13]. Клетки L<sub>929</sub> были выбраны для исследования из-за своей способности к перманентному делению, с целью создания модели пролиферативной ткани *in vitro*. Культивирование осуществляли в полной питательной среде RPMI-1640, содержащей 4 моль/л L-глутамина, 10% эмбриональной сыворотки теленка и 40 мкг/мл гентамицина. Клетки выращивали при постоянной температуре 37°C на покровных стеклах размерами (16×8) мм, которые находились на дне стеклянных флакончиков, до конфлуентного состояния монослоя.

Облучение клеток проводили на аппарате «Тератрон» (Канада) (источник - <sup>60</sup>Co 1,2 МэВ, мощность экспозиционной дозы 4,3·10<sup>-4</sup> Кл/(кг·с), расстояние до объекта 80 см) в дозах 1,0; 5,0 и 10,0 Гр через 24 часа после посадки. 2-меркаптобензтиазол (2-МБТ) добавляли за 1 час до облучения в концентрациях 3,0; 0,3 и 0,03 мкг/мл и культивировали в течение 1-5 суток. Контролем служили культуры клеток без реагента.

Клеточные ответы оценивали в разные сроки культивирования клеток по общепринятым морфофункциональным показателями жизнеспособности: пролиферативная, митотическая активность и количество атипичных многоядерных клеток. Для этого под оптическим микроскопом «Ахioscop» (West Germany) при увеличении в 400 и 1000 раз в пределах сетки методом случайных полей по С.Б. Стефанову подсчитывали общее количество клеток (плотность клеточной популяции), количество митозов и количество гигантских многоядерных (2 и больше ядер) клеток. Митотический индекс и индекс поликариоцитив рассчитывали на 1000 клеток (%). Фото по-



лучены с помощью цифровой камеры DIGITAL CAMERA for Microscope ScienceLab DCM320 (USB 2.0), Resolution 3.5 Mpixels.

В тех же культурах клеток, в которых исследовали морфофункциональные изменения, определяли количество клеток на стадии апоптоза [14]. Анализировали клетки на проточном цитофлюориметре FACStar Plus фирмы «Becton Dickinson» (США). Апоптоз фиксировали по гиподиплоидному ДНК-пику, который четко отделялся от нормального (диплоидного) ДНК-пика. Оценивали красную флуоресценцию (канал FL-2) пропидиум йодида с длиной волны 595 нм не менее, чем для 10000 клеток.

Оценку эффективности радиопротекторных свойств 2-МБТ проводили по фактору уменьшения дозы (ФУД):

$$\text{ФУД} = \text{ЛД}_{50}(2\text{-МБТ}) / \text{ЛД}_{50}(\text{контроль}), \quad (1)$$

где  $\text{ЛД}_{50}(2\text{-МБТ})$  – доза радиации, при которой выживает 50% клеток с радиопротектором;  $\text{ЛД}_{50}(\text{контроль})$  – доза радиации, при которой выживает 50% клеток без него, контроль. Количественной мерой эффективности действия радиопротектора является коэффициент защиты (Кз), который рассчитывается как отношение разности показателей повреждения системы без защитного фактора ( $E^-$ ) и с ним ( $E^+$ ) к значению эффекта без защиты по формуле:

$$K_3 = (E^- - E^+) / E^-, \quad (5)$$

где  $E^-$  – выживаемость клеток без радиопротектора, контроль;  $E^+$  – с радиопротектором.

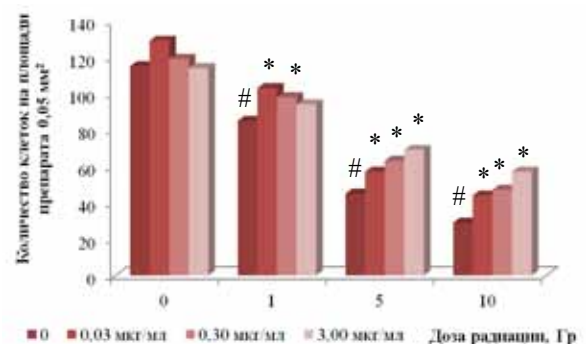
Статистический анализ вероятности полученных данных проводили с помощью t-критерия Стьюдента [15], используя компьютерные программы Microsoft Excel и Biostat с предварительной проверкой гипотезы о нормальном законе распределения случайной величины по критерию Колмогорова-Смирнова.

### Результаты исследования

Предварительно проведенные исследования показали, что в ана-телофазном тесте в клетках корневой меристемы проростков семян *Allium cepa L.* 2-меркаптобензтиазол не показал мутагенных, митоз-

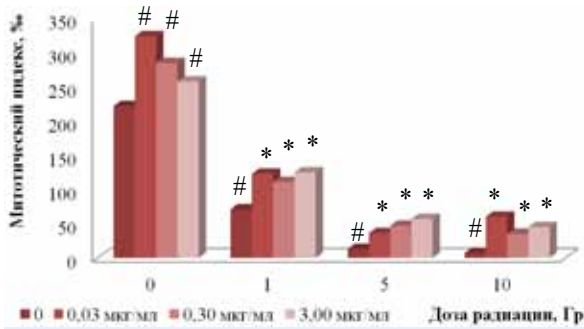
модифицирующих или токсических эффектов в физиологических для этих клеток концентрациях. Избыточное количество реагента приводило к уменьшению митотической активности клеток меристемы, что может указывать на возможный механизм протекторного действия.

Результаты экспериментальных исследований в тест-системе культуры перевиваемых клеток линии  $L_{929}$  представлены на рисунках 1-3. При инкубации клеток с 2-МБТ в различных концентрациях не было обнаружено статистически достоверного изменения ( $p \leq 0,05$ ) плотности клеточной популяции в монослойных культурах (рисунок 1), а только тенденцию к изменению при увеличении содержания реагента. Вместе с тем следует отметить для всех примененных концентраций 2-МБТ стимуляцию митотической активности на терминальной (5 сутки) стадии культивирования (рисунок 2). Если проанализировать количество апоптотических клеток в тест-системе (рисунок 4), то заметно статистически достоверное увеличение их количества при повышении концентрации реагента. Этим можно объяснить постоянное количество клеток в культуре при существенном повышении митотической активности. На данный момент



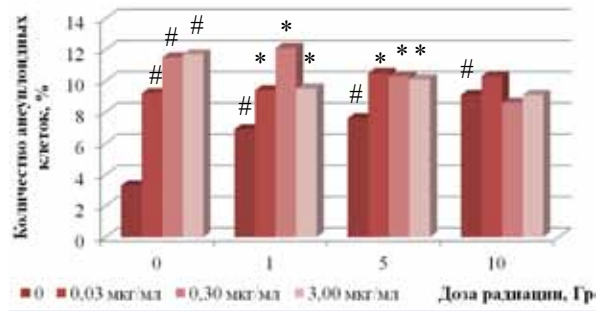
# – статистически значимая разница по сравнению с интактными клетками ( $p \leq 0,05$ );  
\* – статистически значимая разница по сравнению с облучением ( $p \leq 0,05$ )

**Рисунок 1** – Фракция клеток, выживших на 5-е сутки в монослойных культурах клеток  $L_{929}$  при инкубации с 2-МБТ в разных концентрациях и после облучения гамма-квантами  $^{60}\text{Co}$  в разных дозах



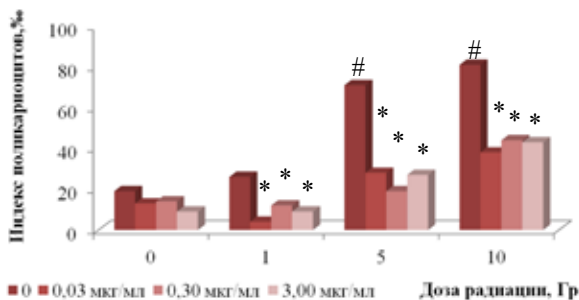
# – статистически значимая разница по сравнению с интактными клетками ( $p \leq 0,05$ );  
\* – статистически значимая разница по сравнению с облучением ( $p \leq 0,05$ )

**Рисунок 2** – Радиомодифицирующее влияние 2-МБТ в различных концентрациях на митотическую активность клеток линии L<sub>929</sub>



# – статистически значимая разница по сравнению с интактными клетками ( $p \leq 0,05$ );  
\* – статистически значимая разница по сравнению с облучением ( $p \leq 0,05$ )

**Рисунок 4** – Дозовая зависимость количества апоптотических клеток в культуре клеток линии L<sub>929</sub> при инкубации с 2-МБТ в разных концентрациях и гамма-облучении



# – статистически значимая разница по сравнению с интактными клетками ( $p \leq 0,05$ );  
\* – статистически значимая разница по сравнению с облучением ( $p \leq 0,05$ )

**Рисунок 3** – Дозовая зависимость индукции гигантских многоядерных клеток в культуре клеток линии L<sub>929</sub> при инкубации с 2-МБТ в разных концентрациях и облучении гамма-квантами <sup>60</sup>Со в разных дозах

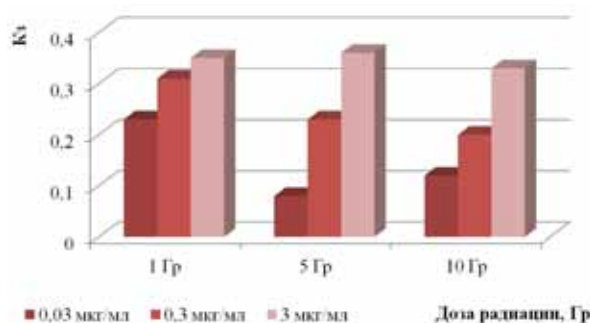
следует обратить внимание на тенденцию к уменьшению (по сравнению с интактными культурами клеток) количества поликариотив при условии присутствия в питательной среде 2-МБТ (рисунок 3).

После облучения клеток гамма-квантами <sup>60</sup>Со в дозах 1, 5 и 10 Гр наблюдали дозозависимое уменьшение показателей жизнеспособности, а именно (см. рисунок 1): плотность клеточной популяции уменьшилась в 1,4-4 раза (в соответствии с увеличением дозы радиации), а митоти-

ческий индекс – от 3 до 32 раз (см. рисунок 2). В то же время количество атипичных поликариотивов повысилось в 1,4-4 раза (см. рисунок 3) и количество апоптотических клеток с увеличением дозы облучения выросло в 2-3 раза по сравнению с интактными культурами клеток.

Следует заметить, что в присутствии 2-МБТ в облученных культурах клеток наблюдали значительно меньшее количество поликариотивов по сравнению с облучением (рисунок 3), что может указывать на генпротекторные свойства реагента. По литературным данным [16] атипичные многоядерные клетки в культуре клеток линии L<sub>929</sub> считаются маркерами репродуктивной гибели клеток.

Определение уровня апоптоза в культуре облученных клеток в присутствии 2-МБТ (см. рисунок 5) показало статистически достоверное увеличение количества апоптотических клеток только после облучения в дозах 1 и 5 Гр ( $p \leq 0,05$ ). После облучения клеток в дозе 10 Гр в присутствии 2-МБТ статистически достоверных изменений апоптоза не наблюдали по сравнению только с облучением. Общеизвестно, что первостепенное значение при апоптозе при действии различных агентов приобретает селективное удаление тех клеток, вы-



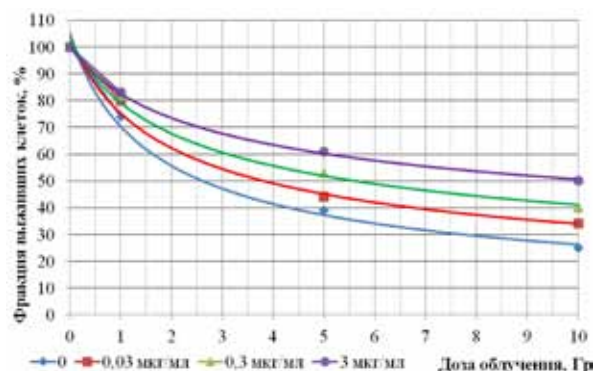
**Рисунок 5** – Зависимость коэффициента защиты при действии различных концентраций 2-МБТ на облученные в разных дозах клетки линии  $L_{929}$ . По оси ординат  $K_z$  - коэффициент защиты

живание которых угрожающе для целостного организма.

Согласно способам оценки эффективности радиопротекторов по проценту погибших клеток, был рассчитан коэффициент защиты ( $K_z$ ) в зависимости от концентрации 2-МБТ (рисунок 5). Наиболее высокие значения  $K_z$  (0,31-0,36) наблюдали после облучения клеток в дозе 1 Гр и при наивысшей концентрации реагента – 3 мкг/мл. Эффективность защиты клеток при наиболее низкой концентрации 2-МБТ – 0,03 мкг/мл уменьшалась с увеличением дозы облучения. Аналогичную тенденцию, но менее выраженную, наблюдали и для концентрации 0,3 мкг/мл.

По выживаемости клеток в монослойных культурах (рисунок 6) был рассчитан фактор уменьшения дозы (ФУД) при различных концентрациях реагента. Расчеты показали, что при концентрациях 2-МБТ 0,03 и 0,30 мкг/мл ФУД по  $LD_{50}$  имел значение 1,5 и 1,8 соответственно, а при концентрации 3,00 мкг/мл ФУД был максимальный – 4. То есть, инкубация клеток с 2-МБТ в концентрации 3,00 мкг/мл в 4 раза уменьшает повреждающий эффект облучения в дозе 10 Гр.

Таким образом, по комплексу морфофункциональных показателей в тест-системе культуры пролиферирующих клеток линии  $L_{929}$  2-меркаптобензтиазол (Мибентол) в физиологических для этих клеток концентрациях не имеет мутагенных или токсичных свойств и повышает жиз-



**Рисунок 6** – Дозовая зависимость количества клеток, выживших в условиях инкубации с 2-меркаптобензтиазолом в различных концентрациях

неспособность клеток, облученных в средне- и сублетальных дозах: увеличивает их выживаемость и митотическую активность в монослойных культурах по сравнению только с облучением. Уменьшение количества атипичных многоядерных клеток при этих условиях может свидетельствовать о его генопротекторных свойствах.

Что касается вероятных механизмов радиопротекторного действия 2-меркаптобензтиазол на клеточном уровне, то, принимая во внимание литературные данные [1, 2, 11, 12] и результаты собственных исследований, именно разрыв дисульфидной связи в молекуле реагента с последующим обезвреживанием свободных перекисных радикалов, которые образуются при воздействии радиации, что в дальнейшем приводит к сдвигам в метаболизме облученных клеток (угнетении биосинтеза и стабилизации ДНК, снижении митотической активности, активации репаративных процессов), способствует их восстановлению после облучения и репопуляции.

#### Выводы:

1. Установлено, что 2-меркаптобензтиазол в физиологических для клеток концентрациях (3,00-0,003 мкг/мл) не изменяет плотности клеточной популяции в монослойных культурах клеток, но повышает митотическую активность в терминальный период культивирования (5-6 суток). Увеличение ко-

личества апоптотических клеток в этот период объясняет постоянное количество клеток в культуре.

2. После облучения клеток в дозах 1, 5 и 10 Гр наблюдали дозозависимое уменьшение их пролиферативной и митотической активности и существенный рост в культуре клеток (в 4 раза) количества поликариоцитов, которых считают маркерами репродуктивной гибели. Увеличение уровня апоптоза в облученных культурах пролиферирующих клеток свидетельствует о радиогенном характере их гибели.
3. Показано, что инкубация клеток до и во время облучения с 2-меркаптобензтиазолом уменьшает радиоиндуцированные повреждения клеток: повышает пролиферацию и митотическую активность по сравнению с действием только радиации. Уменьшение количества поликариоцитов в культуре клеток указывает на генопротекторные свойства реагента. В то же время повышенный уровень апоптоза при этих условиях свидетельствует об элиминации поврежденных радиацией клеток из культуры.
4. Количественная оценка радиопротекторных свойств 2-меркаптобензтиазола в тест-системе культуры клеток линии L<sub>929</sub> показала, что самые высокие показатели коэффициента защиты (0,31-0,36) реагент показал при концентрации 3 мкг/мл при облучении в дозе 1 Гр. В то же время фактор уменьшения дозы, рассчитанный по ЛД<sub>50</sub>, при концентрациях 2-МБТ 0,03 и 0,30 мкг/мл имел значение 1,5 и 1,8 соответственно, а при концентрации 3,00 мкг/мл ФВД был максимальный – 4.
5. По совокупности данных литературы и результатов собственных исследований можно считать 2-меркаптобензтиазол реагентом с радиопротекторными свойствами для клеток *in vitro*.

#### Библиографический список

1. Куна, П. Химическая радиозащита / П. Куна. – М. : Медицина, 1995. – 191 с.

2. Ярмоненко, С.П. Противолучевая защита организма / С. П. Ярмоненко. – М.: Атомиздат. – 1997. – 195 с.

3. Gudkov, A.V. Radioprotection: smart games with death / A.V. Gudkov, E.A. Komarova // J. Clin. Invest. – 2010. – 120(7). – P. 2270-2273.

4. Бебешко, В.Г. Радиопротекторы, как средства минимизации последствий Чернобыльской катастрофы / В.Г. Бебешко, Д.А. Базики // Медицинские последствия аварии на Чернобыльской атомной электростанции / по ред. О.Ф. Возианова, В.Г. Бебешко, Д.А. Базики. – К.: Диа, 2007. – С. 689-707.

5. Васин, М.В. Классификация противолучевых средств как отражение современного состояния и перспективы развития радиационной фармакологии / Острые проблемы разработки противолучевых средств: консерватизм или модернизация : материалы Российской конференции, Москва, 2012 // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2013. – Т. 53, № 6. – С.459-468.

6. Котеров, А.Н. Проблемы поиска средств противолучевой защиты человека в свете достижений генетики старения / Острые проблемы разработки противолучевых средств: консерватизм или модернизация : материалы Российской конференции, Москва, 2012 // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2013. – Т. 53, № 6. – С.487-495.

7. Влияние препарата Б-190 и интерлейкина-1 $\beta$  на динамику количества клеток периферической крови и функциональный статус нейтрофилов облученных мишей / А.Н. Гребенюк [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2013. – Т. 53, №6. – С. 290-296.

8. Оценка лечебной эффективности отечественных препаратов Г-КСФ в опытах на облученных собаках / Л.М. Рождественский [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2013. – Т. 53, № 6. – С.47-.

9. Kouvaris, J.R. Amifostine: The first selective-target and broad-spectrum radioprotector / J.R. Kouvaris, V.E. Kouloulas, L.J. Vlahos // The Oncologist. – 2007. – Vol 12. – P.738-747.

10. Сравнительное изучение эффективности гепарина, интерлейкина-1 $\beta$ ,  $\beta$ -эстрадиола и индометопена в качестве радиопротекторов при остром облучении / А.Н. Гребенюк [и др.] // Вестн. Рос. воен.-мед. акад. – 2011. – №4. – С.101-104.
11. Радиационные поражения и радиопротекторы / М. Дружина [и др.] // Вестн. НАН Укаины. – 2005. – № 4. – С. 17-24.
12. Аклеев, А.В. Основные заключения по радиобиологическим эффектам для целей радиационной защиты / А.В. Аклеев // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2011. – 51, №5. – С. 501-511.
13. L-929 (NCTC-clone929, Clone-of-strainL) (Connective tissue, mouse) (21 грудня) 2009 [Electronic resource] . – Available from: <http://www.viromed.com/services/product/1929.htm>.
14. Дослідження апоптозу у радіаційній імунології: методичні рекомендації / ДУ «Науковий центр радіаційної медицини АМН України». – Київ, 2010. – 27 с.
15. Лапач, С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием MS EXCEL / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – К.: МОРИОН, 2000. – 320 с.
16. Календо, Г.С. Ранние реакции клеток на ионизирующие излучения и их роль в защите и сенсбилизации / Г.С. Календо. – М.: Энергоиздат, 1982. – 96 с.

**К. М. Lytvynchuk**

**RADIOMODIFYING INFLUENCE  
2-MERKAPTOBENZOTIAZOLE ON CELLS *IN VITRO***

An experimental study of 2-mercaptobenzothiazole neuroprotective properties in the test system culture of proliferating cells took place. Incubation of inoculated cell line L929 with 2-mercaptobenzothiazole in the concentration range of 0,03-3,00 mcg/ml showed no statistically significant change ( $p \leq 0.05$ ) in cell population density in monolayer cultures. At the same time we observed (for all the applied concentrations of reactant) stimulation of mitotic activity on the terminal (day 5) stage of cultivation. Irradiation of cells by  $^{60}\text{Co}$  gamma rays at doses of 1, 5 and 10 Gy led to a dose-dependent morphological changes in a cell culture. Irradiation of cells at the presence of 2-mercaptobenzothiazole showed significant reduce of negative impact of radiation on the indicators of cell viability in culture.

Quantifying evaluation of radiomodifying action of 2-mercaptobenzothiazole in a test cell culture system (line L929) showed that the highest protection factor (0,31-0,36) reagent showed at a concentration of 3 mcg/ml at a radiation dose of 1 Gy. At the same time the dose reduction factor (calculated according to the LD50) under the concentration of 0.03 and 0.30 mcg/ml had a value of 1.5 and 1.8 respectively and at a concentration of 3.00 mcg/ml was the maximum - 4. From the combination of literature data and results of our research 2-mercaptobenzothiazole can be considered as reagent with radioprotective properties for proliferating cells in vitro.

**Key words:** cell culture, ionizing radiation, radioprotectors, mitosis, proliferation, apoptosis

Поступила 23.02.2016