



Д.б.н., профессор
В.М. Малиев

ПРОТИВОРАДИАЦИОННАЯ ВАКЦИНА И СПЕЦИФИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ РАДИАЦИОННЫХ ПОРАЖЕНИЙ

В.М.Малиев, В.А.Бижокас, В.А.Киршин, Д.Н.Попов

«Мозг мозг познать не может».

И.П. Павлов, 1910 г.

Многoplanовые фундаментальные исследования на сельскохозяйственных и лабораторных животных (парабионты, гнотобионты, мыши, крысы, кролики, собаки, овцы, свиньи, крупный рогатый скот и лошади), а также на человеке (сыворотка крови ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС), проведенные нами в условиях эксперимента и производства в период с 1982 по 2002 гг., позволили установить два ранее неизвестных явления:

– явление обратимого перераспределения цито-биохимических параметров в системе кровь-интерстиций-лимфа-кровь облученного животного, обеспечивающее компенсаторное поддержание гомеостаза;

– явление специфической иммунохимической реакции радиобиологического эффекта, заключающегося в том, что при облучении животных в дозах, вызывающих развитие церебральной (1), токсической (2), кишечной (3) и типичной (4) форм острой лучевой болезни, в лимфоидной системе формируется высокомолекулярный гликолипопротеид (молекулярная масса – 200-250 кДа) – «лучевой антиген» со специфическими для каждой формы лучевой болезни эпитопами 1,2,3,4 [6,31,31.а].

Эти два явления легли в основу разрабатываемой нами методологии специфических средств профилактики, диагностики и терапии радиационных поражений (know-how) – противорадиационная вакцина, сыворотка и набор диагностикумов, для проведения иммуноферментного анализа.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ММ – молекулярная масса;

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота;

T – T-лимфоцита;

B – B-лимфоцита;

O – промежуточные формы лимфоидных клеток;

цАМФ – циклический аденозинмонофосфат;

ОЦЛ – объем циркулирующей лимфоплазмы;

ОЛБ – острая лучевая болезнь;

СДР – специфическая детерминанта радиационная;

СДР 1 – СДР изолированная при церебральной форме ОЛБ;

СДР 2 – СДР при токсической форме ОЛБ;

СДР 3 – СДР при кишечной форме ОЛБ;

СДР 4/1 – СДР при типичной легкой степени ОЛБ;

СДР 4/2 – СДР при средней степени ОЛБ;

СДР 4/3 – СДР при тяжелой степени ОЛБ;

СДР 4/4 – СДР при крайне тяжелой степени ОЛБ;

КС – коэффициент специфичности;

ИФА – иммуноферментный анализ;

ХРТ – хиноидные радиотоксины;

КРС – крупный рогатый скот;

ЭОЛ – экстракорпоральное отведение лимфы;

СПВ – специфическая противорадиационная вакцина;

ДО – доза облучения;

ИК – инфракрасный;

ОП – оптическая плотность.

Анализируя достижения радиобиологической науки последнего времени по следующим 5 направлениям:

1) *патогенез острых и хронических радиобиологических эффектов, их эффективная профилактика, диагностика и терапия;*

2) *радиационный мутагенез и канцерогенез;*

3) *радиационное старение, сокращение сроков жизни;*

4) *иммунодефицитное состояние, тесно связанное с понижением сопротивляемости организма неблагоприятным факторам среды;*

5) *стимуляция физиологических функций, организма под влиянием малых доз радиации,*

– мы пришли к заключению, что гносеология и органическая взаимосвязь вышеназванных проблем и их решение определяется методологическими подходами и достижениями в изучении первой проблемы, т. е. патогенетических механизмов формирования острых и хронических радиобиологических эффектов.

Литературный и патентный поиск свидетельствует о том, что при облучении любой живой системы механизм индукции радиобиологического эффекта обуславливается синергизмом прямого действия радиации и образующимися при этом биологически активными веществами-радиотоксинами, эффективность которых зависит от длительности облучения и его доз [16, 17, 18, 19, 20]. Эти исследования легли в основу применяемых в настоящее время методов диагностики, профилактики и терапии острых и хронических радиационных поражений, характеризующихся неспецифической направленностью по отношению к патогеноформирующему агенту.

Однако поликлональные экспериментальные исследования на сельскохозяйственных и лабораторных животных однозначно показали, что иммунохимические процессы, протекающие в лимфоидной системе, занимают определяющее место в патогенезе радиобиологического эффекта и являются специфическими для лучистой энергии широкого диапазона [6,31,31.а].

Теоретическим обоснованием предисловия этих исследований послужило логическое сопоставление обширного массива данных, полученных на тот период известными радиобиологическими школами и научными коллективами смежных отраслей знания (США, ФРГ, Франция, Япония). Остановимся на наиболее значимых радиобиологических исследованиях фундаментально-

го направления. В частности, А.М. Кузин и др. [20] изолировали из растительной ткани регактенон, оказывающий радиомиметическое действие на геном клеток, сопровождающийся угнетением синтеза ДНК, снижением деления клеток и роста ткани, образованием пикнозов ядра, фрагментацией хромосом, образованием мутантов. Вместе с тем всего «букета» лучевых реакций после введения регактенона и других радиотоксинов, выделенных из облученных тканей, у животных не наблюдалось (у подопытных животных не удавалось смоделировать симптомы острой лучевой болезни разной формы и степени тяжести). Широкий же спектр обычных химических соединений, которые могут оказывать, в частности с регактеноном, аналогичные радиомиметические эффекты, исключает специфичность индукции этих эффектов основными классами радиотоксинов: гидроперекиси, пероксиды, полифенолы, семихиноны и хиноны, кетоальдегиды, биогенные амины, белки и полипептиды. Эти соединения всегда присутствуют в интактном организме и занимают определенное место в биохимических процессах катол- и анаболизма, обеспечивающих состояние гомеостаза. Радиационное же воздействие индуцирует процесс нарастания уровня тех или иных классов указанных соединений.

Исследования В.А. Копылова и др. [23] доказывают ведущее значение удаления хиноидных радиотоксинов из организма в лечебном действии гемосорбции после гамма-облучения животных в летальных дозах.

В.Г. Владимиров и др. [7] обнаружили в плазме крови животного, подвергнутого воздействию ионизирующего излучения, фракцию низкомолекулярной ДНК. Существуют две точки зрения на происхождение и роль этой ДНК. Одна из них связывает ее происхождение с постлучевой фрагментацией лимфоцитарного ядерного хроматина. Другая точка зрения предполагает наличие активного процесса с целью передачи «горизонтального» потока генетической информации и коррекции клеточных функций путем внутригеномных перестроек.

Эволюционный филогенез лимфоидной системы животных (от простейших организмов до млекопитающих), протекающий на фоне постоянного радиационного фактора, позволил интегрировать ей следующие жизненно важные функции, их восемь: иммунологическую, обменную,

транспортную, депонирующую, гемопоетическую, резорбционную, выделительную и барьерно-фильтрационную [2;6;9;22;25;32;49]. Эта интеграция предопределила ее максимальную радиочувствительность в сравнении с другими системами организма, о которой еще в 1904 году сообщал Х. Хайнек [44].

Исследования в области радиационной патологии структуры и функций лимфоидных органов млекопитающих весьма многочисленны [1; 3;4;8;11;12;14; 15; 21; 24; 27; 28; 31; 34; 35; 41; 42; 43]. Они позволили раскрыть некоторые механизмы в основном иммунодепрессивного действия ионизирующей радиации, акцентируя на гибели лимфоцитов, которая квалифицируется как интерфазная [12;34;42;44]. При этом репродуктивная гибель лимфоцитов также вносит свой определенный вклад в этот механизм иммунодепрессии [16;42].

Авторы исходили из того, что важным доказательством решающей роли гибели лимфоцитов в лучевой лимфопатологии является совпадение величин ДО, полученных при иммунизации целостного организма, ДО=0.8 Гр и в системе адаптивного переноса лимфоидных клеток, ДО=0.7 Гр. Это обстоятельство, как априори, окончательно закрепило среди радиобиологов представление о решающей роли интерфазной и репродуктивной гибели лимфоцитов в развитии радиационной иммунопатологии, что, на наш взгляд, не являлось бесспорным, так как на тот период не было установлено явление, обнаруженное нами: обратимое перераспределение цито-биохимических параметров облученного организма в системе кровь-интерстиций-лимфа-кровь.

Тем более, что Б.Д. Животовский [10] показал количественную взаимосвязь между пикнотическими изменениями клеточного ядра тимоцитов и выходом продуктов пострадиационного распада хроматина. Ферментом, ответственным за расщепление хроматина в облученных клетках, является Са/Mg-зависимая эндонуклеаза. Участки эндонуклеазной атаки распределены случайным образом вне зависимости от степени повторяемости нуклеотидных последовательностей ДНК и транскрипционной активности хроматина. Это позволило сделать заключение о единстве природы радиационной гибели лимфоидных клеток и общебиологического феномена программированной клеточной гибели. Ионизирующее излучение, таким образом, как и другие

лимфолитические факторы, способно вызвать индукцию группы специфических генов, что инициирует включение программы гибели клеток. Однако авторы работ [10;40] достаточно обоснованно, включая ионизирующее излучение в группу лимфолитических агентов, не рассматривают тот факт, что глюкокортикоиды, цАМФ и алкилирующие соединения столь разной химической природы должны вступать в специфическое химическое взаимодействие, типа эпителио-идиотоп, со специфическими локусами генов, ответственных за гибель клеток, а ионизирующее излучение не может по своей природе оказать такого воздействия непосредственно, без специфических для радиации аддуктов-посредников. Поэтому мы предполагали, что облучение высокой энергией, как и другие геноток-сиканты, способно вызывать индукцию групп специфических генов, включающих программу гибели клетки, только опосредованно, через систему специфических аддуктов. Эти предположения подтвердились не только в проведенных нами исследованиях.

Изучая пусковые механизмы радиационной гибели лимфоцитов, Сорокина Н.И. [37] на основании многочисленных экспериментов показала, что ионизирующая радиация вызывает изменение антигенного фенотипа незрелых тимоцитов мышей, которое имеет такую же направленность, как и при действии химических индукторов дифференцировки и тимотропина, что косвенно свидетельствует о специфическом модифицирующем эффекте ионизирующей радиации.

Фундаментальные достижения молекулярной радиобиологии способствовали значительному прогрессу в выяснении, подчеркиваем, механизмов данного процесса, что позволило К.П. Хансону приблизиться к пониманию многих сторон возникновения, развития и реализации радиационных эффектов в лимфоцитах [40]. В рамках предложенной гипотезы интерфазная гибель облученных лимфоцитов рассматривается как один из примеров общебиологического явления программированной клеточной гибели. Интерфазная гибель клеток наступает в результате включения специфической генетической программы, запуск которой, как утверждает автор, может осуществляться под влиянием многих сигналов, среди которых лимфолитические агенты разной природы: глюкокортикоиды, алкилирующие соединения,

цАМФ, индукторы дифференцировки и ионизирующее излучение.

Таким образом, наряду с утвердившимся положением в радиобиологии, согласно которому основной причиной, обуславливающей развитие лимфопении, является интерфазная и репродуктивная гибель лимфоцитов, полученные нами результаты свидетельствуют о том, что в развивающуюся лимфопению существен-

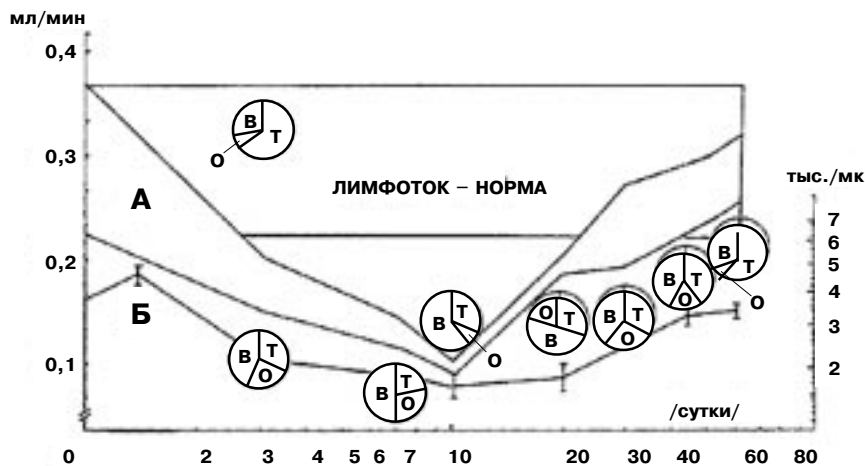


Рис. 1. Динамика лимфотока (А) и лимфоцитов (Б) в лимфе кроликов при тяжелой степени ОЛБ.

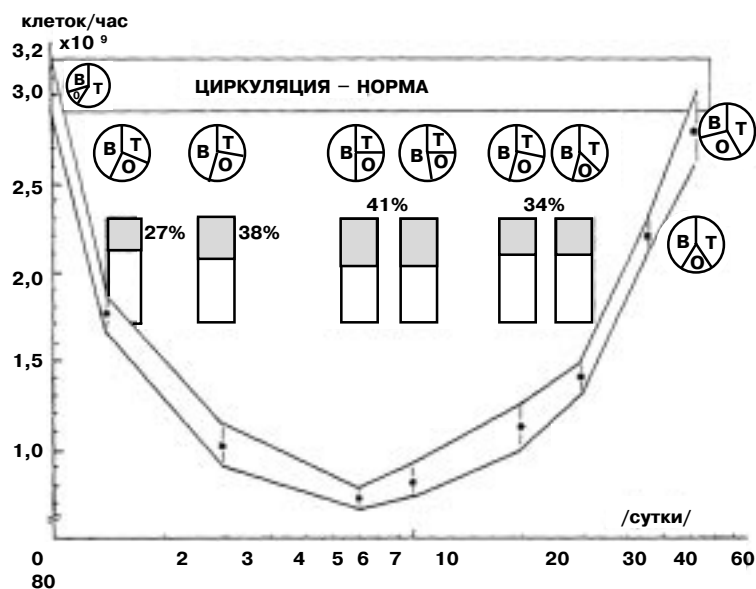


Рис. 2. Динамика циркуляции лимфоцитов и их субпопуляций в системе лимфа-кровь у кроликов при тяжелой степени ОЛБ

ный вклад вносит также фактор замедления транспорта лимфы (рис.1), в результате чего возникает дефицит в циркуляции лимфоцитов с током лимфы. Величина, характеризующая этот вклад в зависимости от дозы облучения и сроков после него, может достигать 30-45% (рис. 2). Если, вкупе с развитием указанного процесса, рассматривать миграцию лимфоидных клеток в стенку лимфангионов и ангионов (рисунок представляет 10-15% лимфоидных форм клеток), то есть нарушения специфичности «хоминга» лимфоцитов, то на долю интерфазной и репродуктивной гибели лимфоцитов, а значит, и вклада этого процесса в развитие лимфопении, будет приходиться 40-45%. В

пользу этого предположения свидетельствуют повышение титра аутоантител, морфологическим субстратом для синтеза которых являются лимфоидные клетки, отсутствие выраженной гиперпротеинемии в транспортных средах организма облученного животного (ведь гибель любых клеточных форм должна сопровождаться выходом белка, пептидов и др.), а также анализ динамики абсолютных величин лимфоцитов, их субпопуляций (и активная их способность к розеткообразованию с эритроцитами барана, см. рис.3), эритроцитов и тромбоцитов в лимфе и периферической крови [31].

Особое внимание было обращено на исследования, проведен-

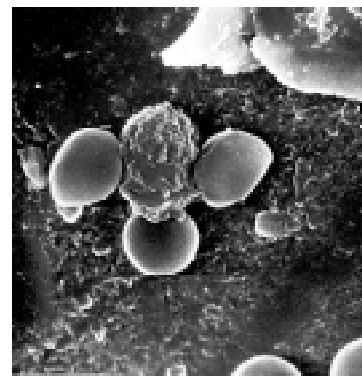


Рис. 3. Т-теофелинустойчивый лимфоцит центральной лимфы крупного рогатого скота, облученного в дозе 2Гр. Сканограмма. УВ.9000.

ные лауреатом Государственной премии СССР В.А. Киршиным и его сотрудниками на протяжении 1986-90 гг., которые однозначно показали, что крупный рогатый скот черно-пестрой породы, подвергнутый радиационному воздействию на Чернобыльском следе, отличается повышенной радиорезистентностью. В этих исследованиях был подтвержден

принцип радиационной иммунизации животных [13].

Результаты этих исследований существенно подкрепили наше предположение о специфической направленности индукции радиобиологического эффекта. Изучению которой, собственно, и были посвящены исследования периода 1982-2002 гг.

Материал и методы исследований

Настоящие исследования проводились в Белорусском научно-исследовательском институте радиологии, г. Гомель, Санкт-Петербургском ветеринарном институте, Казанском всероссийском научно-исследовательском ветеринарном институте, Литовской ветеринарной академии (г.Каунас.), ISE (Бонн, ФРГ; Торонто, Канада) на крупном рогатом скоте черно-пестрой породы 2,5–3,0-летнего возраста, живой массой 300–350 кг (134 гол.); свиньях украинской породы 0,5–1,0-годовалого возраста, живой массой 35–90 кг (142 гол.); овцах породы прекокс 3–12-месячного возраста, живой массой 18–23 кг (156 гол.); собаках беспородных 3–4-летнего возраста, живой массой 6,0–6,5 кг (162 гол.); кроликах линии «Шиншилла» 11–12-месячного возраста, живой массой 3,5-3,7 (180 гол.); лошадях латвийской упряжной породы 3–8-годовалого возраста, живой массой 350-550 кг (32 гол.); мышах Валр 2–3-месячного возраста, живой массой 20–22 гр. (2636 гол.); крысах Вистар 3–4-месячного возраста, живой массой 180–220 гр. (4002 гол.). Для исключения микробного фактора патогенеза ОЛБ опыты проводились на гнотобионтах лабораторных животных. Для изучения миграционного и токсического фактора – на

парабионтах с перекрестным лимфо- и кровообращением.

В опыт брали животных с нормальной гемограммой и температурой тела, у которых гомеостатические константы центральной лимфы не выходили за пределы функциональной варибельности, определенные нами для пяти видов млекопитающих (табл.1), что носило принципиальное значение для проведения исследований.

На протяжении всего периода эксперимента от суток до 2-х лет контрольные и опытные животные находились в одинаковых условиях кормления, содержания и ухода, соответствующих зоотехническим требованиям и нормам.

У животных опытной группы моделировали легкую, среднюю, тяжелую, крайне тяжелую степень острой лучевой болезни, типичной, а также кишечной, токсической и церебральной формы. Животных облучали в условиях установок РУМ-17, «Пума» и «Панорама». Мощность экспозиционной дозы составляла от 3 А/кг до 29 А/кг. За сутки до радиационного воздействия, а также через 15,30 и 45 суток после него животным накладывался лимфо-венозный анастомоз по методу [30]. Принципиальная схема эксперимента представлена на рис.4.



Рис. 4. Принципиальная схема исследований: 1. Грудной проток. 2. Яремная вена. 3. Подкожная вена плеча. 4. Цистерна. 5. Лимфотические узлы.

Таблица 1.

Гомеостатические константы центральной лимфы животных

Показатель	Крупный рогатый скот	Свинья	Собака	Овца	Кролик
ОЦЛ (л/кг)	0.027-0.082	0.040-0.090	0.038-0.041	0.020-0.070	0.048-0.043
Лимфоток (мл/мин/кг)	0.031-0.036	0.044-0.166	0.071-0.077	0.014-0.065	0.076-0.080
Лейкоциты (т/мкл)	4.9 ± 0.2	6.3 ± 0.4	2.7 ± 0.2	5.3 ± 0.3	3.8 ± 0.4
Лимфоциты (т/мкл)	4.8 ± 0.2	6.1 ± 0.1	2.5 ± 0.2	5.2 ± 0.2	3.7 ± 0.3
-/- (%)	98.0 ± 0.3	98.4 ± 0.5	96.0 ± 1.0	98.6 ± 0.9	98.0 ± 0.4
T _a -лимфоциты (%)	56.0 ± 2.6	63.0 ± 4.3	53.0 ± 2.4	61.0 ± 4.0	66.0 ± 2.1
T _y -лимфоциты (%)	25.0 ± 2.9	30.0 ± 3.3	18.0 ± 2.0	17.0 ± 4.1	38.0 ± 1.9
T -лимфоциты (%)	19.0' ± 2.1	6.1 ± 1.2	12.1 ± 1.3	5.4 ± 1.4	26.2 ± 2.2
B -лимфоциты (%)	34.0 ± 3.0	34.0 ± 4.8	30.0 ± 3.4	38.0 ± 5.1	28.0 ± 1.8
Моноциты (%)	1.3 ± 0.3	0.9 ± 0.4	3.9 ± 1.0	0.6 ± 0.3	0.9 ± 0.2
Нейтрофилы (%)	0.3 ± 0.3	0.4 ± 0.2	0.4 ± 0.2	0.4 ± 0.3	0.6 ± 0.2
Тромбоциты (т/мкл)	97.0 ± 1.5	83.0 ± 1.2	68.0 ± 2.2	100.0 ± 1.6	33.0 ± 1.7
Эритроциты (кл/мкл)	30.0 ± 15.0	170.0 ± 45.0	12.0 ± 12.0	15.0 ± 7.0	38.0 ± 12.0
Общий белок (г%)	4.3 ± 0.06	5.4 ± 0.03	3.06 ± 0.06	4.1 ± 0.02	3.31 ± 0.03
Фракции белков: %					
1. Альбумины	32.4 ± 1.2	33.4 ± 1.6	32.7 ± 1.7	31.3 ± 1.4	32.2 ± 1.8
2. Постальбумины	7.2 ± 0.4	7.0 ± 0.4	6.0 ± 0.3	6.4 ± 0.3	6.1 ± 0.8
3. Трансферрины	17.9 ± 0.7	17.1 ± 0.7	18.1 ± 1.1	18.9 ± 0.8	18.5 ± 0.5
4. Гаптоглобулины	21.6 ± 0.6	20.1 ± 1.1	22.0 ± 1.4	20.3 ± 1.3	21.1 ± 1.6
5. Гамма-глобулины	16.9 ± 0.3	16.3 ± 0.8	15.9 ± 0.2	16.6 ± 0.4	14.3 ± 0.9
6. Макро-глобулины	4.1 ± 0.1	4.9 ± 0.4	5.0 ± 0.2	4.5 ± 0.3	3.7 ± 0.1
Активность:					
лизосоима (%)	6.8 ± 0.9	8.9 ± 0.4	13.7 ± 0.7	7.0 ± 1.1	7.6 ± 0.5
бактерицидная (%)	53.0 ± 16.0	69.0 ± 10.0	62.0 ± 9.0	63.0 ± 9.4	56.0 ± 4.0
бетта-лизинов (%)	4.8 ± 0.2	9.3 ± 0.9	5.5 ± 0.1	5.9 ± 0.4	4.2 ± 0.1
протеолитическая (мг/л)	315.0 ± 18.0	380.0 ± 10.0	272.0 ± 33.0	291.0 ± 12.0	179.0 ± 25.0
Трийодтиронин, нМ/л	1.18 ± 0.05	1.83 ± 0.10	2.00 ± 0.08	1.01 ± 0.03	1.00 ± 0.04
Тироксин, нМ/л	112.5 ± 6.06	80.0 ± 3.22	78.7 ± 7.31	113.4 ± 4.12	121.0 ± 7.42
Кортизол, нМ/л	36.4 ± 2.46	24.4 ± 3.21	36.7 ± 1.91	41.4 ± 2.17	33.7 ± 1.93
Инсулин, мк. ед. /мл	28.4 ± 1.15	38.4 ± 1.09	24.3 ± 1.22	26.9 ± 1.11	28.3 ± 1.33

В динамике, на протяжении всего пост-радиационного периода, у животных отбирались образцы центральной лимфы и периферической крови, в которых определялись цито-биохимические параметры по методу [30]. Извлечение специфической иммунохимической детерминанты (СДР) из центральной лимфы животного при це-

ребральной (СДР 1), токсической (СДР 2), кишечной (СДР 3) и типичной (легкой-СДР 4/1; средней СДР 4/2; тяжелой СДР 4/3; крайне тяжелой СДР 4/4) формах ОЛБ осуществлялось методами иммунного истощения и аффинной иммунолимфоплазмасорбцией (рис.5), а также прямым извлечением (рис.6).

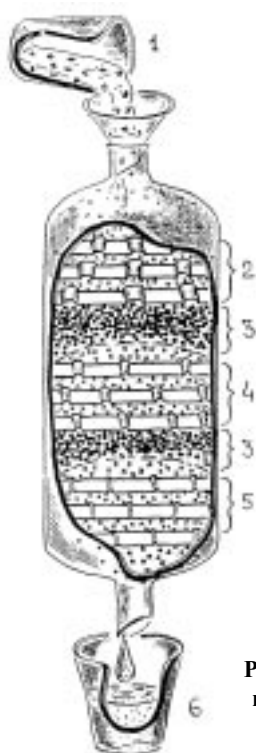


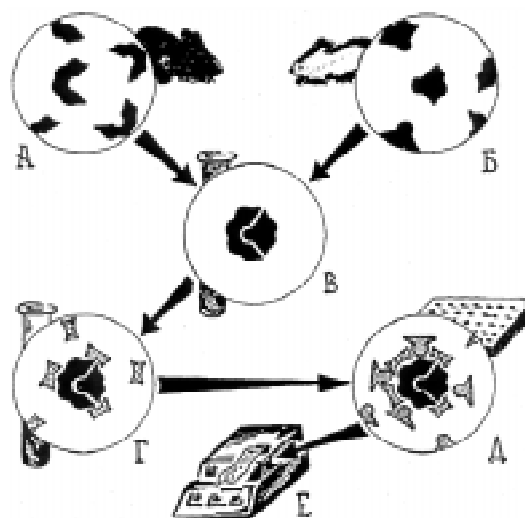
Рис. 5. Схема специфической (аффинной) иммунолимфоплазмсорбции: 1 – лимфо-плазма животного; 2,4,5 – мембраны с иммобилизованными лигандами; 3 – активированные угли; 6 – элюант.



Рис. 6. Прямое извлечение СДР 3 из центральной лимфы (№4134. Первые часы после облучения в дозе 50 Гр).

Идентификацию специфичности СДР проводили в реакциях иммуноферментного анализа (рис. 7) в объектах исследования, представленных на рис.8.

Рис. 7. Метод постановки ИФА (А – диагностикумы, содержащие заведомо положительный и отрицательный антигены; Б – меченые ферментными маркерами антитела; В – субстрат; Г – продукт цветной реакции; Д – останавливающая жидкость; Е – учет реакции на автоматическом фотометре).



В случае положительного анализа делают кровопускание, отделяют сыворотку, выделяют IgG,

ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ МЕТОДОМ ИМУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

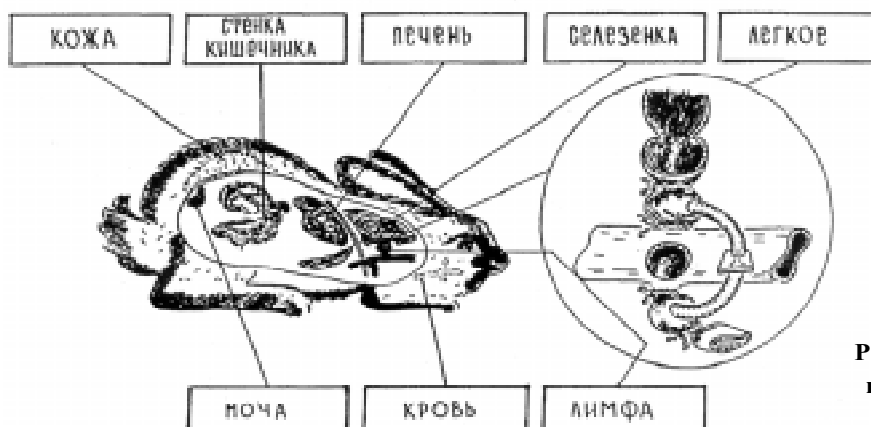


Рис. 8. Объекты исследования.

(основное внимание уделялось центральной лимфе и периферической крови). Это позволяло нам определять наличие и степень выраженности радиационного поражения у животных на основе выявления специфических для лучистой энергии детерминант СДР-1; 2; 3;4, а также специфических для соответствующей формы ЛБ «лучевых антител» (ELISA-enzyme-linked immunosorbent-метод) [29]. Учет реакции производили визуально по разности интенсивности окраски продукта реакции опыта и контроля, а также на сканирующем спектрофотометре, при длине волны 492 нм. Визуальная оценка проводилась по 4 бальной системе (++++). Пробу считали положительной при оценке в два креста и больше. При спектрофотометрическом учете результата реакции производили расчет коэффициента специфичности (КС). Реакцию считали положительной при КС не менее 2,0 и отрицательной – при менее 2,0 ед.

Иммунохимическую реакцию между препаратами СДР и анти-СДР с целью получения растворимого иммунного комплекса проводили по следующей схеме. К 0,5 мл раствора СДР соответствующего эпитопа (1 мкМ) в 0,01 М трис-НСL, рН 8,0 прибавляли 5-4 мкл раствора антител к СДР (фракция, высаживаемая при 33%-м насыщении сульфатом аммония раствора анти-СДР с титром 1:1000) и инкубировали в течении 2,5 часа при $t=20^{\circ}\text{C}$. Для выявления специфичности вза-

имосвязывания СДР и анти-СДР проводили инкубацию при $t=20^{\circ}\text{C}$ в течении 45 минут, а затем разделяли продукты реакции и исходные компоненты системы гель-фильтрации на TSK-теле 60 НW.

В качестве прототипа для ИФА-метода и сравнительной характеристики препаратов СДР использовали метод А.М. Кузина [20], предназначенный для идентификации радиотоксинов хиноидной природы. Компонентный состав лиофильных образцов СДР определяли по методам [45;46]. Сравнительный анализ образцов СДР разных эпитопов проводили с использованием ИК-спектрометрии SR-20 (ФРГ) по методу [26;48].

Радиомиметические свойства препаратов СДР оценивали по способности индуцирования радиобиологических эффектов у животных, после парентерального их введения. Для этого лиофилизаты СДР 1 и СДР 4/4 (изолированные из лимфы животных, облученных в дозах, вызывающих соответственно церебральную и крайне тяжелую степень ОЛБ) растворяли в изотоническом растворе NaCl. Расчет доз вводимого препарата производился из учета выхода СДР на единицу объема центральной лимфы и поглощенной дозы радиационного воздействия.

Индукцированные посредством СДР 1 и СДР 4/4 симптомы ОЛБ сравнивали с аналогичными, вызванными облучениями (рис. 9).



Рис. 9. Лошадь №14. Крайне тяжелая степень ОЛБ (6,5 Гр).

Результаты исследований обработаны методами вариационной статистики.

Результаты исследований

Изолированные вещества из центральной лимфы животных при типичной, кишечной, токсической и церебральной формах ОЛБ представляют собой от светло-бежевого до светло-желтого цветов порошки, частично прилипают к стеклу, растворимы в воде и водных растворах NaCl, спиртов, дают слабо выраженную реакцию на радиотоксины хиноидной природы. Водные растворы нейтральной реакции.

ются эпитопы СДР 3 и СДР 4/4, а высокая иммуногенность и специфичность изолированных препаратов СДР 1 – 4 позволила нам использовать их в качестве антигенов при проведении иммуноферментного анализа с целью диагностики радиационных поражений животных (ИФА). Это позволило нам выявить «лучевые» антигены (СДР 1-4) в сыворотке крови, моче и органах животных (рис.8) на протяжении первых 2-х месяцев после радиационного воздействия (таблица 3), а

Таблица 2.

Компонентный состав СДР 3 и СДР 4/4

Компонентный состав (%)	Кишечная СДР 3	Типичная СДР 4/4
1. Белок	50.1 ± 0.09	56.2 ± 0.12
2. Липиды	38.2 ± 0.04	30.1 ± 0.09
3. Углеводы	10.2 ± 0.03	10.1 ± 0.07
4. Минеральный остаток	1.3 ± 0.04	3.4 ± 0.17

В таблице 2 представлен компонентный состав СДР 3 и СДР 4/4, изолированных из центральной лимфы при кишечной форме и крайне тяжелой степени ОЛБ. Возрастание уровня поглощенной дозы от типичной формы ОЛБ к кишечной сопровождается наращением белковой и липидной компоненты на 6-8%, при стабильном уровне углеводов. При этом минеральный остаток снижается на 2%. Результаты хроматографического анализа показали относительную однородность препаратов СДР, а, согласно проведенным расчетам, молекулярная масса изолированных детерминант соответствовала порядку 200-250 кДа. Это обстоятельство и определило лимфогенный путь десиминации СДР.

ИК-спектры препаратов показали как общие, так и индивидуальные признаки СДР. В частности, сопоставление ИК-спектров СДР 3 и СДР 4/4 свидетельствует о том, что обе эти детерминанты являются соединениями одного и того же типа. Однотипность строения СДР 3 и СДР 4/4 была подтверждена также в реакциях ИФА-метода, когда наблюдались кросс-реакции между антителами к СДР 3 и СДР 4/4 и наоборот.

Результаты иммунохимического анализа СДР 3 и СДР 4/4 позволяют предполагать, что молекулы их состоят из стабильной, идентичной для обеих макромолекул, тяжелой цепи и относительно вариабельной легкой цепи, которой определя-

ются эпитопы антитела к ним – в течение 2-х лет (период наблюдения).

Относительно химической природы изолированных детерминант СДР 3 и СДР 4/4 следует отметить, что они представляют собой протеиды, а в качестве простетической группы у них обнаруживаются липидная и углеводная компоненты.

Подобный тип протеидов входит в состав клеточной мембраны и внутриклеточных биомембран ядра, митохондрий, микросом, а также присутствует в свободном состоянии (транспортных средах организма). Установлено, что аналогичный тип протеидов участвует в структурной, комплексной организации миелиновых оболочек, нервов, хлоропластов, фоторецепторной и электронно-транспортной систем, палочек и колбочек сетчатки [5].

Что касается механизмов образования изолированных нами протеидов после радиационного воздействия, то существуют две рабочие гипотезы:

- высвобождение депонированных, ранее присутствующих протеидов этого класса, с последующей их модификацией;
- радиационно-химический и ферментативный процессы новообразования изолированных липо-глико-протеидов.

Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что в образовании протеидов аналогичного типа

строения участвуют нековалентные силы различной природы, определяемые наличием или отсутствием у липидной компоненты ионизированных групп атомов. В то же время отсутствие перекрестных реакций в иммуноферментном тесте между нормальными протеидами, выделенными из миелиновых оболочек и нервов, и антителами против СДР 3 и СДР 4/4, и наоборот, свидетельствует в пользу радиационно-химического и ферментативного процессов формирования «лучевых» гликолипопротеидов, которые могут быть отнесены к лимфолитическим агентам, аддуктам, воздействующим на индукцию программированной гибели. В следующей серии опытов изучалось формирование СДР в центральной лимфе и периферической крови на животных при различных типах ОЛБ. Результаты этих исследований представлены в таблице 3.

20 часов) нарастал уровень СДР 4/1 до максимального, держась на этом плато 5-20 часов. Титр антител к СДР 4/1 в лимфоплазме и сыворотке крови до облучения составил 1:80 – 1:100, свидетельствуя об отсутствии СДР 4/1 в организме животных. Спустя 50-60 часов титры антител к СДР 4/1 стали возрастать, достигая своего максимума к 25-45 суткам, коэффициент специфичности находился в пределах от 2.0 до 2.5 ед. У отдельных животных титры антител к СДР 4/1 держались на достаточно высоком уровне вплоть до 60 суток и на умеренном – при КС не меньше 2 – до 2-х лет (срок наблюдения). Следует отметить, что, наряду с СДР 4/1 и антител к ним, у всех видов животных выявлялись СДР 4/2, СДР 4/3, СДР 4/4 и соответственно антитела к ним, но в титрах значительно более низких (КС= от 1.5 до 1.8).

Таблица 3.

Специфические иммунохимические реакции при разных формах ОЛБ

Форма ОЛБ	Визуальная и спектрофотометрическая оценка ИФА (\pm и КС)						
	СДР-1	СДР-2	СДР-3	СДР 4/4	СДР 4/3	СДР 4/2	СДР 4/1
Церебральная	++++ 2,8-3,3	++++ 2,7-3,0	++++ 2,6-2,9	+++ 2,2-2,9	+++ 2,1-2,2	++ 2,0-2,1	++ 1,8-2,0
Токсическая	++ 1,8-2, 1	++++ 2,5-3, 1	+++ 2,2-2,4	+++ 2,2-2,4	+++ 2,1-2,3	++ 1,8-2,0	++ 1,8-2,0
Кишечная	- <2,0	+++ 2,2-2,5	++++ 2,6-3, 1	+++ 2,2-2,5	+++ 2,2-2,5	++ 1,8-2,0	++ 1,8-2,0
Типичная:							
а) крайне тяжелая	- <2,0	- <2,0	+++ 2, 1-2,2	++++ 2,5-3,0	+++ 2, 1-2,2	++ 1,8-2,0	++ 1,8-2,0
б) тяжелая	- <2,0	- <2,0	- <2,0	+++ 2,2-2,5	++++ 2,6-3,0	+++ 2,2-2,5	++ 1,8-2,0
в) средняя	- <2,0	- <2,0 I	- <2,0	- <2,0	+++ 12,0-2,1	++++ 2,5-2,6	+++ 2,0-2,1
г) легкая	<2,0	<2,0	<2,0	<2,0	- <2,0	++ 1,8-2,0	++++ 2,5-3,0

Спустя 3-5 часов (табл. 4) после облучения, вызывающего легкую степень ОЛБ, у животных всех видов как в лимфе, так и в крови (через 6-

При этом результаты реакций на предмет наличия ХТР как в лимфе, так и в крови по методу [44] были отрицательными.

Таблица 4.

Зависимость периода формирования максимального уровня СДР от формы и степени тяжести острой лучевой болезни

Форма и степень ОЛБ, СДР	Промежуток времени максимального уровня СДР после облучения (часы), вид животного и объект исследования					
	Кролик		Собака		Крупный рогатый скот	
	лимфа	кровь	лимфа	кровь	лимфа	кровь
Типичная легкая, СДР 4/1	3- 8	6-10	5- 8	20-40	3-12	6-15
Средняя, СДР 4/2	3-10	6-10	3-10	15-50	3-14	8-15
Тяжелая, СДР 4/3	3-24	6-24	1-72	8-72	3-24	6-72
Крайне тяжелая, СДР 4/4	1-24	6-28	1-72	4-40	2-28	3-80

Однако при средней степени тяжести ОЛБ формирование позитивного уровня ХРТ и максимального СДР в лимфе опережает таковые в крови в среднем на 2-5 часов и наблюдается у подопытных животных независимо от его вида в период от 3 до 10 часов. При этом достоверность анилиновой реакции на хиноидные РТ, оцениваемая по ОП исследуемых проб лимфы, существенно отличалась от достоверности результатов реакции иммуноферментного анализа на наличие СДР 4/2 ($p < 0.05$ и $p < 0.001$), тем более, что через 24 часа реакция на хиноидные продукты становилась отрицательной. Таким образом, наряду с теоретическими посылами целый ряд экспериментальных факторов указывает на то, что реакция связывания СДР и анти-СДР по своей природе является иммунохимической реакцией между антигеном и антителом. В то время как в основе индикации радиотоксинов хиноидной природы лежит физико-химическая реакция, что однозначно интерпретирует направленность механизма формирования радиобиологического эффекта в пользу специфической иммунохимической реакции. При этом не исключено, что использование конъюгатов, в которых в качестве гаптепа находится хиноидный продукт, может дать вполне обнадеживающий результат. В пользу этого свидетельствует слабо выраженная реакция на хиноидный продукт при индикации последнего в препаратах СДР по методу А.М. Кузина [44].

В иммуноферментном тесте коэффициент специфичности по отношению к СДР 4/1 в лим-

фе соответствовал 2.0-2.1, в то время как к СДР 4/2 – 2.5-2.6. Эти результаты свидетельствуют о том, что специфическая иммунохимическая реакция у животных при средней степени ОЛБ проявляется формированием в меньшей степени СДР 4/1 и в большей – СДР 4/2, что отражалось и в титре антител по отношению к детерминантам, уровень которых, как и уровень соответствующих титров антител, носил больше характер индивидуальных особенностей, нежели видовых.

Так, в сыворотке крови некоторых кроликов, которые реагировали развитием продуктивного периода антителогенеза в более ранние сроки, выявлялись высокие титры антител и к СДР 4/1, и к СДР 4/2, что наблюдалось на протяжении 2 месяцев (период наблюдения). В сыворотке крови крупного рогатого скота при этом наблюдались высокие титры антител только по отношению к СДР 4/2 (со 2-й недели и до 2 месяцев), а у некоторых собак в начальный период высокие титры ($КС=2.4$) антител выявлялись против СДР 4/1, в дальнейшем – к СДР 4/2 (также до 2 месяцев).

Необходимо также отметить, что у животных, при наличии в лимфе и крови после радиационного воздействия СДР 4/2 и СДР 4/1, а также высоких титров антител к ним (1:2008 – 1:2488), до облучения не обнаруживалось и тех и других (титры антител составляли 1:80 – 1:100). Ведущей детерминантой при кишечной форме ОЛБ, как показали реакции ИФА-метода, являлась СДР 3, с величиной $КС=2,6$

– 3,1 ед. Однако серопозитивные результаты были получены также и в отношении детерминант, свойственных для тяжелой и крайне тяжелой степени ОЛБ (КС определялся диапазонами от 2,2 до 2,5 ед.), т.е. СДР 4/3 и СДР 4/4 соответственно. При этом, если при типичной форме ОЛБ серонегативными были результаты ИФА-метода, по отношению к детерминанте СДР 2, то при кишечной форме ОЛБ величина КС СДР 2 соответствовала 2,2-2,5, что характерно для токсической формы ОЛБ. Облучение животных в дозах, вызывающих токсическую форму ОЛБ, приводило к образованию детерминанты СДР 2 с КС 2,5-3,1, при серопозитивных результатах на наличие СДР 3, СДР 4/4 и СДР 4/3, но более низкой специфичности, КС соответствовал 2,1-2,4 ед.

При церебральной форме ОЛБ ведущей детерминантой являлась СДР 1, при серопозитивных результатах на наличие детерминант СДР 2, СДР 3, СДР 4/4 и СДР 4/3. Следует выделить, что облучение в диапазоне доз, вызывающих ОЛБ, от крайне тяжелой степени до церебральной формы, не приводило к образованию детерминант, свойственных легкой и средней степени ОЛБ, т.е. СДР 4/1 и СДР 4/2 (табл.3).

Изучая вопросы миграции СДР 4/4 мето-

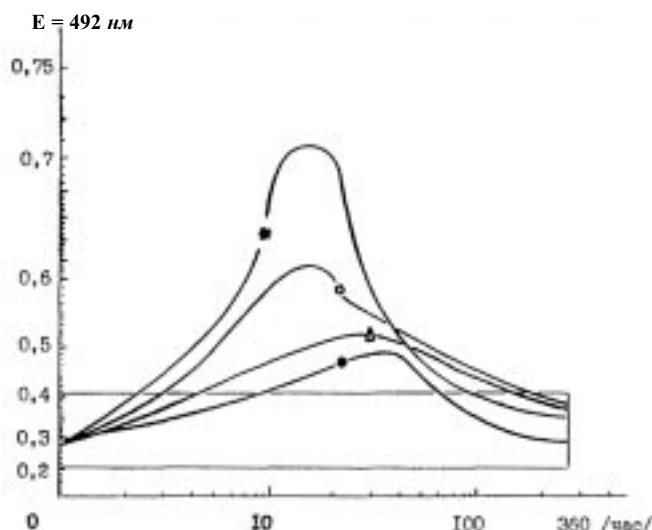


Рис. 10. Динамика уровня СДР 4/4 в крови собак (*,Δ) и КРС (O,•) при крайне тяжелой степени ОЛБ; *, • – без ЭОЛ. Δ, O – с ЭОЛ.

дом экстракорпорального отведения центральной лимфы (ЭОЛ) у кроликов, собак и КРС при крайне тяжелой степени ОЛБ, установили, что уровень СДР 4/4 в крови после отведения лимфы падает в среднем на 30-50%

($p < 0.005$), а пик максимального насыщения при этом перемещается по оси абсцисс вправо (рис. 10),

При сопоставлении динамики формирования СДР 4/4 в крови и лимфе с динамикой лимфотока в грудном протоке отмечена корреляционная взаимосвязь между этими процессами. Так, существенные сдвиги в транспорте лимфы выявляли через 48-72 часа после облучения, а максимальная концентрация СДР 4/4 в лимфе и крови отмечалась соответственно на 3-10 и 3-19 часах, т.е. интенсивность поступления СДР 4/4 в первые часы после облучения с током лимфы в кровь весьма существенна. С развитием лимфостатического процесса, индуцированного радиационным воздействием, отмечается снижение уровня СДР 4/4 в крови.

При тяжелой и крайне тяжелой степенях ОЛБ как в лимфе, так и в крови животных наряду с СДР 4/3 и СДР 4/4, а также антител к ним, всегда обнаруживались СДР 4/1, СДР 4/2, соответственно и специфические антитела к ним, однако коэффициенты специфичности находились в пределах от 1.6 до 2.0. Следует особо выделить наличие СДР 3 в лимфе и крови у животных, которые в конечном счете погибали (КОЗ.О), и отсутствие ее у выживших (табл.3).

Таким образом, эффект «диагонали», представленный в таблице 3, который начинается с легкой степени ОЛБ (минимальные дозы радиационного воздействия, которые использовались в данных экспериментах) и заканчивается церебральной формой ОЛБ, свидетельствует о специфической для радиобиологического эффекта иммунохимической реакции, в указанном диапазоне форм ОЛБ.

Эти результаты показывают, что радиочувствительность животных определяется характером специфической иммунохимической реакции на воздействие лучистой энергии. Так, у животных, облученных в дозах, которые ведут к летальному исходу, доминируют специфические детерминанты СДР 1, 2 и 3, и неважно, каков был уровень поглощенной энергии, – индикация этих детерминант методом иммуноферментного анализа с коэффициентом специфичности более 2.0 единиц свидетельствует о неминимумности гибели облученного животного. При этом одна и та же

доза лучистой энергии приводит к формированию не только в организме особей разных видов, но и в пределах одного и того же вида специфической детерминанты с различными эпитопами, которые и определяют исход острой лучевой болезни. С этих позиций вполне объяснима столь существенная разница в биологическом эффекте и исходе радиационного поражения животных при определении понятия дозы ЛД 50/30 (50% погибает, а 50% выживает, при одной и той же дозе радиационного воздействия), т.е. радиочувствительности.

В двух сериях опытов изучалась возможность индуцирования симптомов острой лучевой болезни при помощи препаратов СДР 1 и СДР 4/4, изолированных из лимфы животных



Рис.11. Овца №Б-0413. Через 11 суток после введения препарата СДР 4/4.

Имитация клинической картины ОЛБ крайне тяжелой степени (на двенадцатые сутки овца пала).

соответственно при церебральной и крайне тяжелой степени ОЛБ, которые вводились внутримышечно; животным группы биологического контроля вводили только физиологический раствор.

Радиобиологические эффекты, индуцированные посредством препаратов СДР 1 и СДР 4/4, сравнивали с аналогичными, вызванными облучением, после чего, на основании клинко-физиологического и патолого-анатомического заключений, устанавливали форму и степень тяжести поражения, вызванного введением СДР.

Введение препаратов СДР 1 в 3-х испытываемых дозах вызывало гибель животных в течение первых суток постинъекционного периода. У подопытных животных период выраженного возбуждения сменялся состоянием глубо-

кой комы, которая заканчивалась летальным исходом. Результаты патолого-анатомического вскрытия трупов показали следующее: паренхиматозные органы в состоянии кровенаполнения, точечные кровоизлияния на серозных покровах, инсульт головного мозга. Сопоставляя полученные результаты с литературными источниками и собственными исследованиями, мы пришли к заключению, что препарат СДР 1 при парентеральном способе введения индуцирует радиобиологические эффекты у подопытных животных, свойственные церебральной форме ОЛБ.

Наиболее ярко эффекты, свойственные радиационному воздействию, проявились у животных 2-й серии опытов, которым внутримышечно вводили препарат СДР 4/4, также в 3-х испытываемых дозах. К 15-м суткам все овцы этой подопытной группы погибали в динамике на 9, 12 и 16 сутки (рис. 11). Характерными клинко-физиологическими признаками при этом являлись: кратковременное возбужденное состояние на протяжении первых 2-х часов после введения препарата, сопровождающееся приступами аритмии, снижением поедаемости корма и усилением перистальтики. Кратковременный лейкоцитоз сменялся прогрессирующим нарастанием лейкопении, в основном за счет снижения абсолютного количества лимфоцитов, минимальные уровни которых выявлялись в период с 7 по 15 сутки после введения препарата, составляя при этом 1,2 – 1,6 тыс/мкл и 0,4 – 0,5 тыс/мкл у овец и 1,8 – 2,5 тыс/мкл и 0,5 – 0,7 тыс/мкл у крупного рогатого скота. Восстановление абсолютных и относительных уровней лейкоцитов и лимфоцитов у отдельных животных наблюдалось к 30 – 60 суткам.

Динамика количества тромбоцитов характеризовалась развитием тромбоцитопении на фоне прогрессирующей эритроцитопении (у животных третьей подопытной группы), переходящей в анемию.

Развернутая гемограмма периферической крови крупного рогатого скота свидетельствует об однотипности процессов, индуцированных введением препарата СДР 4/4, и процессов, обусловленных радиационным воздействием [12,44].

Анализируя динамику клинической реакции на введение СДР 4/4, которая оценивалась регист-

рацией температуры тела, частоты сердечных сокращений и дыхательных движений, установлено, что характер ее носит однотипную направленность при всех испытуемых дозах препарата и что большую чувствительность по отношению к препарату проявляют подопытные овцы и лошади. Так, у овец 3-й подопытной группы, получавших СДР 4/4 в максимальной испытуемой дозе, за 1-2 суток до гибели температура тела повышалась на 1,5 – 2,0 °С, достигая 41,2 °С, на фоне выраженной тахикардии и тахипноэ, параметры которых определялись соответственно величинами 105 – 106 и 70 – 81 в минуту. При введении СДР 4/4 в средней и максимальной дозе как у овец, так и у крупного рогатого скота наблюдались однотипные изменения, свойственные максимальной дозе СДР, но в меньшей степени выраженности. Саногенез у подопытных животных отмечался в основном к 30 – 60 суткам, после введения препарата.

Патолого-анатомические исследования павших животных показали характерные для острой лучевой болезни изменения на фоне выраженных геморрагий. У некоторых овец в области спины и живота наблюдались участки эпителии.

Сопоставляя клиническую картину и патолого-анатомические изменения с учетом динамики гибели подопытных животных, индуцированных препаратом СДР с различными эпитопами и в разных дозах, следует заключить, что изолированные детерминанты из центральной лимфы животных, облученных в широком диапазоне доз, проявляют выраженные радиомиметические свойства, характерные для симптомов острой лучевой болезни той или иной формы.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о том, что при облучении животных в дозах, вызывающих развитие церебральной (1), токсической (2), кишечной (3) и типичной (4) форм острой лучевой болезни, радиобиологический эффект носит характер специфической иммунохимической реакции, которая проявляется формированием в лимфоидной системе высокомолекулярного ММ 200-250 кДа гликолипопротеида (СДР), со специфическими для каждой формы радиационного поражения эпитопами (СДР 1; 2; 3; 4). Видовая и индивидуальная радиочувствительность животных определяется способностью индивидуума отве-

чать на радиационное воздействие формированием доминирующей специфической детерминанты соответствующего эпитопа, то есть степень проявления и конечный результат радиобиологического эффекта, индуцированный одной и той же дозой облучения у индивидуумов, как в пределах одного, так и разных видов животных, зависит от того, какой из эпитопов гликолипопротеида образуется в организме облученного животного.

Несмотря на то, что патогенетический механизм формирования радиобиологического эффекта рассматривается в научной литературе с 1896 года, иммунохимическая специфичность этого механизма до недавнего времени оставалась неизученной.

Экспериментальное подтверждение данного положения о специфичности иммунохимической реакции радиобиологического эффекта, представленное настоящими исследованиями, дало нам принципиальную возможность создания экспериментальных образцов противорадиационной вакцины и специфических средств терапии и диагностики радиационных поражений (know-how).

Опыты по определению оптимальных доз и сроков введения противорадиационной вакцины – СПВ с целью оценки радиозащитных свойств проводились на крысах линии «Вистор» 3–4-месячного возраста, живой массой 180–200 г.; кроликах линии «Шиншилла» 11–13-месячного возраста, живой массой 3,5 – 3,7 кг; собаках беспородных 3–4-летнего возраста, живой массой 6 – 6,5 кг. Для каждого опыта отбирались подопытные и контрольные животные по 20 голов. Опыты проводились в 3-кратной повторности. Мощность экспозиционной дозы составляла от 3 А/кг до 29А/кг. За 5,10,15,30,60,90 суток до облучения подкожно вводили противорадиационную вакцину (СПВ) в дозах 5,10,15,20 мкг/кг живой массы. Контрольным животным вводили только 1,5 мл физраствора. Критерием эффективности СПВ служила выживаемость животных к 30-м суткам после облучения: крыс в дозе 10,0 Гр, кроликов в дозе 9,5 Гр, собак в дозе 6,5 Гр. Результаты представлены в таблице 5.

Из таблицы 1 следует, что максимальный радиозащитный эффект СПВ оказывает в дозах 10-15 мкг/кг живой массы при введении ее за 10-60 суток до радиационного воздействия в летальных дозах, обеспечивая выживаемость 95-100%

Таблица 5.

Группы и вид животных	Доза СПВ (мкг/ кг)	Кол-во животных (гол.)	Доза облучения (Гр)	Время введения СПВ до облучения (в сутках) / Процент выживаемости животных к 30 суткам					
				5	10	15	30	60	90
Крысы	5	20	10,0	85	90	90	90	85	40
	10	20	10,0	85	100	100	95	100	40
	15	20	10,0	90	95	100	100	100	70
	20	20	10,0	90	95	90	95	90	60
Контроль облучения	–	20	10,0	0	0	0	0	0	0
Кролики	5	20	9,5	80	80	80	75	70	50
	10	20	9,5	90	100	95	100	100	40
	15	20	9,5	85	90	100	100	100	60
	20	20	9,5	85	8	90	85	80	50
Контроль облучения	–	20	9,5	0	0	0	0	0	0
Собаки	5	20	6,5	70	75	80	70	70	50
	10	20	6,5	70	95	95	100	95	65
	15	20	6,5	65	95	100	95	100	55
	20	20	6,5	70	80	75	80	90	60
Контроль облучения	–	20	6,5	0	0	0	0	0	0

подопытных животных. При этом следует отметить, что дозы 5 и 20 мкг/кг живой массы, введенные за 10-60 суток до облучения, также оказывали высокий радиозащитный эффект (70-90%), введение СПВ за 5 и 90 суток до облучения обеспечивало выживаемость 40-90% животных. В то время как в контроле наблюдалась 100% гибель.

Развернутые сведения об эффективности противорадиационной вакцины представлены в таблице 6.

Полученные результаты могут найти широкое применение в радиационно-биологических технологиях, производстве фармацевтических препаратов, используемых при космических полетах человека и животных в условиях повышенной радиационной опасности на территориях, примыкающих к радиационным энергоблокам, для усиления иммуногенных свойств вакцин (ящура, паратифа, сибирской язвы) и сывороток, применяемых для диагностики паразитарных болезней (в частности разработан способ эффективной диагностики эхинкоккоза с применением СДР в качестве адьюванта), онкологии (для

повышения радиоустойчивости окружающих опухоль тканей).

Основное назначение «лучевого» антигена:

- изготовление противорадиационной вакцины для профилактики и защиты животных и населения от последствий радиационных воздействий (например, авария на Чернобыльской атомной электростанции);

- снижение побочных эффектов при лучевой терапии новообразований;

- контроль состояния организма в процессе лучевой терапии.

По материалам исследований подготовлены материалы к патентованию:

- вещество – «лучевой» антиген;
- способ выделения «лучевого» антигена;
- способ применения «лучевого» антигена;
- имеется know-how на способ выделения «лучевого» антигена.

Подготовлен проект монографии «Радиобиология млекопитающих».

Разработаны методические рекомендации «Имуноферментный анализ диагностики радиационных поражений» с использованием

Таблица 6.

Эффективность противорадиационной вакцины

Животные	Группы	Доза облучения	Процент выживаемости (дней)			
			30 дней	60 дней	180 дней	360 дней
Мыши	Опыт	7.0	85-100	75-100	-	-
	Контроль	7.0	0	0	-	-
Кролики	Опыт	9.5	80-100	70-100	-	<i>m</i>
	Контроль	9.5	0	0	-	-
Собаки	Опыт	6.5	95-100	85-100	70-100	70-100
	Контроль	6.5	0	0	0	0
Свиньи	Опыт	7.5	95-100	90-100	80-100	80-100
	Контроль	7.5	0	0	0	0
Овцы	Опыт	6.5	80-100	75-100	70-100	70-100
	Контроль	6.5	0	0	0	0
Лошади	Опыт	6.5	75-100	70-100	70-100	70-100
	Контроль	6.5	0	0	0	0
Крупнорогатый скот	Опыт	9.2	95-100	90-100	80-100	75-100
	Контроль	9.2	0	0	0	0
Крысы	Опыт	8.5	90-100	85-100		
	Контроль	8.5	0	0		

«лучевого» антигена, позволяющий однозначно идентифицировать радиационное воздействие.

В настоящее время рассматриваются вопросы

и предложения о патентной защите материалов исследований и более эффективного их применения в различных отраслях жизнедеятельности человека.

* * *

Об авторах:

Малиев В.М. – кандидат биологических наук, доцент, зав. кафедрой радиационной биологии, ФГБОУ ВПО «Самарский государственный университет имени академика С.П. Королёва»;
Бижокас В.А. – кандидат биологических наук, доцент, зав. кафедрой радиационной биологии, ФГБОУ ВПО «Самарский государственный университет имени академика С.П. Королёва»;
Киршин В.А. – кандидат биологических наук, доцент, зав. кафедрой радиационной биологии, ФГБОУ ВПО «Самарский государственный университет имени академика С.П. Королёва»;
Попов А.Н. – кандидат биологических наук, доцент, зав. кафедрой радиационной биологии, ФГБОУ ВПО «Самарский государственный университет имени академика С.П. Королёва».

Литература

1. Аксянцев М.Н. и др. Компенсаторные возможности лимфатической системы при острой лучевой болезни//Мед. радиология, 1964, т. 5. –С. 39-44.
2. Алексеев А.А., Петухов Е.Б., Мусин И.И. и др. Состав лимфы при сорбционном и ультрафильтрационном способах ее очистки//Вет.хир., 1985, №6. –С.113.
3. Бардычев М.С., Цыб А.Ф. Местные лучевые поражения. –М.: Медицина, 1985. –С.240.
4. Белоусова О.И., Федотова М.И. Количественная оценка ранней реакции лимфоидной ткани на облучение в широком диапазоне доз//Вопросы радиобиологии. –Томск, 1968. –С.43.

5. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. – М.: Медицина, 1982. – С.750.
6. Бижокас В.А., Малиев В.М. Лучевой антиген и специфические средства диагностики и терапии.//Veterinaria ir Zootechnika, T.13[35], 2001. –Р.5-10.
7. Владимиров В.Г. и др. О низкомолекулярной ДНК в плазме крови облученных животных.//Мат. радиобиол. съезда, Киев, 1993., т. 1. –С. 186.
8. Груздев Г.П. Острый радиационный костномозговой синдром. – М.: Медицина, 1988. –С.143.
9. Жданов Д.А. Общая анатомия и физиология лимфатической системы. – Л., 1962. –С.336.
10. Животовский Б.Д. Молекулярные механизмы индуцированной радиацией программируемой гибели клеток.// Автореферат докт. дисс. биол. наук. – Л., 1988. –С.42.
11. Иванов А.Е., Куршакова Н.Н., Шиходыпов В.В. Патологическая анатомия лучевой болезни. – М.: Медицина, 1981. –С. 167.
12. Киршин В.А., Белов А.Д., Бударков В.А. Ветеринарная радиобиология. – М.: Агропромиздат, 1986. –С.174.
13. Киршин В.А., Бударков В.А. Ветеринарная противорадиационная защита. – М.: Агропромиздат, 1989. –С.205.
14. Климов И.А. Миграционная активность микроцитов и состояние протеолиза у больных со злокачественными лимфомами при лучевой дезинтоксикационной терапии.// Лабораторное дело. – 1997 г. №2. –С.42-44.
15. Краевский Н.А. Очерки патологической анатомии лучевой болезни. – М., 1957. –С.90.
16. Кудряшов Ю.Б., Беренфельд Б.С. Основы радиационной биофизики. – Изд. МГУ. 1982. – С.302.
17. Кузин А.М. Роль токсинов в радиационном поражении клетки.//Патогенез, экспериментальная профилактика и терапия лучевых поражений. – М.: Медицина. 1964. –С.131-147.
18. Кузин А.М. Молекулярная радиобиология клеточного ядра. – М.: Атомиздат, 1973. –С.208.
19. Кузин А.М. Радиотоксины как регуляторы роста и развития.//Лучевые поражения.//Под ред. Ю.Б. Кудряшова. –М.: МГУ., 1987. –С.113-122.
20. Кузин А.М., Копылов В.А. Радиотоксины. – М.: Наука, 1983. –С.173.
21. Кузнецова С.Ф. Влияние миелопептидов на пострадиационное восстановление тимуса.//Радиобиология. – 1989. т. 29. в.3. –С.326-330.
22. Куприянов В.В. и др. Микролимфология. – М.: Медицина, 1983. –С.288.
23. Копылов В.А., Ревин А.Ф. О значении удаления хиноидных радиотоксинов из облученного организма в эффективности гемосорбции при терапии лучевой болезни.// Радиобиология. –1992. – В.2. т.32. –С. 276-279.
24. Лебедев К.А. Морфологические аспекты влияния ионизирующей радиации на антителиобразование.//Успехи современной биологии. –1969. – Т.67. в.1. – С.68-78.
25. Левин Ю.М. Основы лечебной лимфологии. – М.: Медицина, 1986. –С.288.
26. Леконт Ж. Инфракрасное излучение. – М.: Гос. изд-во физ. мат. лит-ры, 1958. –С.586.
27. Малиев В.М. Ранние морфологические изменения в тимусе крысы при острой лучевой болезни.//Морфология сельскохозяйственных животных. – М.: ЛВИ, 1984. –С.37-39.
28. Малиев В.М. и др. Реактивные изменения органов иммунной системы крыс при острой лучевой болезни.//Тезисы докл. 2-й Всесоюзной конференции по С/Х радиологии. – Обнинск, 1984. – Т.2 –С. 62-63.
29. Малиев В.М., Икаев С.Х. и др. Иммуноферментный анализ в диагностике лучевой болезни животных. – ГУВ МСХ СССР. Владикавказ, 1991. –С. 99.
30. Малиев В.М., Попов Д.Н., и др. Принципы и методы исследования структурно-физиологических констант лимфы и лимфообращения. –М., 1989. –С.27.
31. Малиев В.М. Механизмы формирования радиогенной лимфопатологии.//Доклады РАСХН N9-10, 1992. –С.21,25.
- 31.а. Малиев В.М., Попов Д.Н., Киршин В.А. и др. Явление специфической иммунохимической реакции радиобиологического эффекта у животных. – Пушкино, 1997. –С.61.
32. Панченков Р.Т., Выренков Ю.С., Ярема И.В., Уртаев Б.М. Лимфосорбция. – М.: Медицина., 1982. –С.237.
33. Патент РФ №2145877.
34. Петров Р.В., Зарецкая Ю.М. Радиационная иммунология и трансплантация. – М.: Атомиздат, 1970, –С.542.
35. Пожарисская Т.Д., Лаврентьева И. И. Восстановление клеточного состава различных зон коры лимфатического узла после общего и частичного облучения.//Радиобиология, 1978. –Т. XVIII, в. I –С.51-55.
36. Руководство по вакцинному и сывороточному делу.//Под ред. П.П. Бургасова. –М.: Медицина, 1978. –С.209.
37. Сорокина Н.П. Пусковые механизмы радиационной гибели лимфоидных клеток.//Автореф. дисс. докт. биол. наук. – Обнинск, 1988. –С.32.
38. Троицкий В.Л., Каулен Д.Р., Туманян М.А., Фриденштейн А.Я., Чахова О.В. Радиационная иммунология. – М.: Медицина, 1965. –С.375.
39. Троицкий Т.Л., Туманян М.А. Влияние ионизирующих излучений на иммунитет. –М., 1958. –С.198.
40. Хансон К.П., Животовский Б.Д., Евтушенко В.И., Звонарева Н.Б., Сейлиев, Борисова Е.А. Итоги и перспективы исследования механизмов интерфазной гибели облученных клеток.//Радиобиология.//Инфекционный бюллетень. –1988, N.32. –С.37.
41. Ярилин А.А. Нарушение и восстановление связей популяций лимфоцитов после облучения.//Автореф. дисс. докт. мед. наук. – Л., 1981. –С. 35.
42. Ярмоненко С.П. Радиобиология человека и животных. – М.: Высшая школа., 1984, –С.375.
43. Anderson R.E., Shrent J., Miller S.F.A.P. Radiosensitivity of T- and B-lymphocytes. 1. Effect of irradiation on cell migration //Eur.J.Immunol. 1974. v.4. –P.199-203.
44. Бонд В., Флинднер Т., Аршамбо Д. Радиационная гибель млекопитающих. – М.: Атомиздат, 1971, 317 с.
45. Dubois M. et all. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical chemistry. 1956. v.28. N6. –P.350-356.
46. Lowry O.H. et all. Protein measurement with the folin-phenol reagent.//The Journal of biological chemistry. 1951. V. 193. N1. –P. 265-275.
47. Окада Ш. Радиационная биохимия клетки. – М.: «Мир», 1974. –С.396.
48. Петерс Д., Хайес Д., Хифтье Г. Химическое разделение и измерение. – М., «Химия», т.2, 1978. –С.816.
49. Русняк И. Фельди М., Сабо Д. Физиология и патология лимфообращения. – Изд-во АН, Венгрия, 1957. –С.856.

Доклад представлен на Общем собрании ВНЦ
г.Владикавказ, 2002 г.