

УДК 577.346:615.279:612.014.48

Х. М. Литвинчук¹, Г. Й. Лавренчук¹✉, Л. М. Литвинчук^{2,3}, В. С. Асмолкова⁴, О. А. Бойко¹¹Державна установа “Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України”, вул. Мельникова, 53, 04050, Київ, Україна²Медичний центр “Офтальмологічна клініка професора Сергієнка” вул. Пирогова, 47 а, м. Вінниця, Україна³Karl Landsteiner Institute for Retinal Research and Imaging, Juchgasse, 25, 1030, Vienna, Austria⁴Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна Національної академії наук України, вул. Леонтовича, 9, 01601, Київ, Україна

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ОЦІНКА РАДІОПРОТЕКТОРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ 2-МЕРКАПТОБЕНЗТІАЗОЛУ У ТЕСТ-СИСТЕМІ КУЛЬТУРИ КЛІТИН

Мета: дослідження радіопротекторних властивостей 2-меркаптобензтіазолу у тест-системі культури проліферуючих клітин.

Матеріали і методи: цитогенетичні, цитологічні, статистичні.

Результати. Аналіз цитогенетичних ефектів 2-меркаптобензтіазолу за критеріями частоти аберацій та пошкодженості аберантної клітини показали, що в усьому діапазоні досліджених концентрацій реагента частота аберацій достовірно не перевищувала значення цього показника в контролі, проте спостерігалась тенденція до зменшення мітотичної активності клітин кореневої меристеми. При інкубації перещеплюваних клітин лінії L₉₂₉ з 2-меркаптобензтіазолом у діапазоні концентрацій 0,03–3,00 мкг/м не було виявлено статистично достовірної зміни ($p \leq 0,05$) щільності клітинної популяції у моношарових культурах. Водночас спостерігали для усіх застосованих концентрацій реагента стимуляцію мітотичної активності на термінальній (5-а доба) стадії культивування. Опромінення клітин гамма-квантами ⁶⁰Co в дозах 1, 5 та 10 Гр призвело додозозалежних морфологічних змін у культурі клітин. Опромінення клітин в присутності 2-меркаптобензтіазолу істотно зменшило негативний вплив радіації на показники життєздатності клітин в культурі.

Висновки. Кількісна оцінка радіопротекторних властивостей 2-меркаптобензтіазолу у тест-системі культури клітин лінії L₉₂₉ показала, що найвищі показники коефіцієнта захисту (0,31–0,36) реагент показав при концентрації 3 мкг/мл при опроміненні в дозі 1 Гр. Водночас фактор зменшення дози, розрахований по ЛД₅₀, за концентрацій 0,03 та 0,30 мкг/мл мав значення 1,5 та 1,8 відповідно, а за концентрації 3,00 мкг/мл був максимальний – 4. За сукупністю даних літератури та результатів власних досліджень можна вважати 2-меркаптобензтіазол реагентом з радіопротекторними властивостями для клітин *in vitro*.

Ключові слова: частота хромосомних аберацій, мітоз, радіопротектори, іонізуюче випромінювання, культура клітин, проліферація, апоптоз.

Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2015. Вип. 20. С. 510–525.

✉ Лавренчук Галина Йосипівна, e-mail: hl20071956@ukr.net

H. M. Litvinchuk¹, G. Y. Lavrenchuk¹✉, L. M. Litvinchuk^{2,3}, V. S. Asmolikova⁴, O. A. Boyko¹

¹State Institution “National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Science of Ukraine”, Melnykov str., 53, Kyiv, 04050, Ukraine

²“Ophthalmologica Clinic of professor Sergiyenko” Medical Center, Pirogova str., 47 a, Vinnitsa city, Ukraine

³Karl Landsteiner Institute for Retinal Research and Imaging, Juchgasse, 25, 1030, Vienna, Austria

⁴Palladin Institute of Biochemistry. National Academy of Sciences of Ukraine, 9, Leontovich Str., 0160, Kyiv, Ukraine

Experimental evaluation of 2-mercaptobenzothiazole radioprotective capacities on cell cultures test system

Objective. To study the radioprotective properties of 2-mercaptobenzothiazole on proliferating cell culture test system.

Materials and methods: cytogenetic, cytological, statistics.

Results. Analysis of cytogenetic effects of 2-mercaptobenzothiazole by frequency aberrations criteria and aberrant cells damage criteria showed that upon entire investigated range of reagent concentrations the frequency of aberrations was not significantly higher than the value of this indicator in control, but there was a tendency of reduction of mitotic activity of root meristem cells. Upon the incubation of inoculated cell line L₉₂₉ with 2-mercaptobenzothiazole in the concentration range 0.03–3.00 mg/ml statistically significant change ($r \leq 0,05$) of cell population density in monolayer cultures was found. At the same time for all the applied reagent concentrations stimulation of mitotic activity in the terminal (5 days) stage of cultivation was observed. Exposure of cells by gamma quanta of ⁶⁰Co in doses of 1, 5 and 10 Gy led to dose-dependent morphological changes in cell culture. Exposure of cells in the presence of 2-mercaptobenzothiazole significantly reduced the negative impact of radiation on cell viability parameters in culture.

Conclusions. Quantifying radioprotective properties of 2-mercaptobenzothiazole in the test system – cell culture L₉₂₉ – showed that the highest rates of protection factor (0.31–0.36) reagent had at a concentration of 3 mg/ml under the irradiation at a 1 Gy dose. However, dose reduction factor (DRF) calculated by LD₅₀ for concentrations of 0.03 and 0.30 mg/ml had a value of 1.5 and 1.8 respectively, and the concentration of 3.00 mg/ml DRF was the maximum – 4. The literature study and the results of our own research showed that 2-mercaptobenzothiazole can be considered to be reagent with radioprotective properties for cells in vitro.

Key words: frequency of chromosomal aberrations, mitosis, radioprotectors, ionizing radiation, cell culture, proliferation, apoptosis.

Problems of radiation medicine and radiobiology. 2015;20:510-525.

ВСТУП

У майбутньому потреба в радіопротекторах зросте у зв'язку з освоєнням космосу, розвитком ядерної енергетики і можливої війни із застосуванням ядерної зброї та так званих “брудних бомб”. На сьогоднішній день отримано тисячі радіозахисних препаратів [1–6] і ведуться розробки нових, які отримують шляхом вдосконалення структури старих препаратів, а також пошуком нових речовин, що володіють радіозахисною дією [7–12].

Радіопротектори відносяться до найрізноманітніших класів хімічних сполук. Відомо, що механізмами дії хімічних модифікаторів є зміна первинних радіаційно-хімічних реакцій, вільних радикалів і інших продуктів радіолізу, вплив на процеси репарації, на сублетальні та потенційно летальні ушкодження клітин [13–18]. Радіозахисний ефект сірковмісних

INTRODUCTION

The requirements of a radioprotectors increase due to space exploration, the development of nuclear energy and the possible war with nuclear weapons and so-called “dirty bombs.” Today there are thousands of radioprotective drugs [1–6] received and lots of new are developing, which is obtained by improving the structure of the old drugs, and finding new substances with radioprotective effect [7–12].

Radioprotectors belong to different classes of chemical compounds. It is known that the mechanisms of action of chemical modifiers is to change the primary radiation-chemical reactions of free radicals and other radiolysis products, the impact on the processes of reparation, in sublethal and potentially lethal damage to cells [13–18].

радіопротекторів, яким є 2-меркаптобензтіазол (Мербентол) [19–21], реалізується на клітинному рівні в результаті швидкого звільнення у фізіологічних умовах сульфгідрильної групи. Як потужний відновлювач, такий радіопротектор може “перехоплювати” та знешкоджувати вільні перекисні радикали, що виникають при опроміненні в присутності кисню, нормалізувати збудження молекул біосубстратів, запобігаючи необоротним змінам, а також впливати на взаємодію субстратів один з одним, утворюючи комплекси з іонами двовалентних металів, які є каталізаторами окислювальних процесів, утворювати змішані дисульфіди з білками. При цьому променева енергія витрачається на розрив дисульфідного зв’язку. Окрім цих початкових реакцій велику роль відіграють зміни, які відбуваються у пізніші періоди. Згідно з існуючими теоріями про механізми радіпротекторної дії [5, 22–25], ці зміни розвиваються внаслідок взаємодії радіопротектора з білками, нуклеопротейдами, специфічними рецепторами та іншими життєво необхідними субстратами клітин. В результаті спостерігаються зрушення в клітинному метаболізмі (пригнічення біосинтезу та стабілізації ДНК, зниження активності ядерного та мітохондріального фосфорилювання, мітозу тощо). Однак ці зміни мають оборотний характер, а в післяпроменевому періоді відновлюються з підвищеною інтенсивністю. Все це забезпечує високу радіорезистентність тканин в період опромінення і швидку регенерацію радіочутливих тканин після опромінення.

Ефективність дії радіозахисних речовин оцінюється за багатьма показниками. Варто зазначити, що жорсткі вимоги до радіопротекторів стосуються іонізуючого випромінювання у високих дозах, гострого опромінення і 30-добового періоду спостереження для організмів. Для кількісної характеристики дії модифікаторів використовують фактор зменшення дози (ФЗД) та коефіцієнт захисту (Кз). Для визначення зазначених параметрів використовують LD_{50} , LD_{37} та LD_0 , кількість одно- і двониткових розривів ДНК, мутацій, хромосомних аберацій, пухлин, зміни радіочутливості ферментів, мембранних процесів, поведінкові реакції, кількість і характер ембріональних порушень тощо. Таким чином, модифікатори мають вплив на різних рівнях біологічної організації – від молекулярного до організмового.

МЕТА

Метою дослідження було виявлення радіопротекторного впливу 2-меркаптобензтіазолу у тест-системі культури проліферуючих клітин.

Radioprotective effect of sulfur-comprising substances, which is 2-mercaptobenzothiazole (Merbentol) [19–21], is implemented at the cellular level based on the rapid release of sulfhydryl group in physiological conditions. As a powerful reducing agent, such radioprotectors can “intercept” and neutralize free peroxide radicals that occur during irradiation in the presence of oxygen, normalize the excitation of biosubstrate molecules, preventing irreversible changes and influence the interaction of substrates with each other, forming complexes with ions of divalent metals, which are catalysts for oxidation processes forming disulfide mixed with proteins. At the same time radiant energy is spent to break disulfide bond. In addition to these initial reactions changes that occur in the later periods also play an important role. According to existing theories about the mechanisms of radioprotecting action [5, 22–25], these changes develop as a result of radioprotector interaction with proteins, nucleoprotein-specific receptors and other vital cell substrates. As a result, there are changes in cellular metabolism (biosynthesis inhibition and stabilization of the DNA, decreased activity of nuclear and mitochondrial phosphorylation, mitosis, etc.). However, these changes are reversible, and at after-irradiation period are restored with increased intensity. All this provides high tissue radioresistance during radiation and fast regeneration of radiosensitive tissues after exposure.

Effectiveness of radioprotective substances can be assessed in many ways. It should be noted that strict requirements for radioprotectors of ionizing radiation are regarded to high doses of irradiation, acute exposure and 30-day observation period for organisms. To quantify performance characteristics of modifiers dose reduction factor (FDD) and protection factor (Ks) are used. To determine these parameters LD_{50} , LD_{37} and LD_0 are used, as well as number of single and twin DNA breakage, mutations, chromosome aberrations, tumors, enzymes radiosensitivity changes, membrane processes changes, behavioral responses, the number and nature of embryonic violations etc. Thus, modifiers influence at different levels of biological organization – from molecular to organismal.

OBJECTIVE

The objective of the study was to identify the impact of radioprotective 2-mercaptobenzothiazole proliferating cell culture test-system.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Цитогенетичні методи

Оцінювали мутагенні, мітозмодифікуючі і токсичні ефекти 2-меркаптобензотіазолу (2-МБТ) в ана-телофазному тесті в клітинах кореневої меристеми проростків насіння *Allium cepa* L. Насіння пророщували в експериментальних розчинах в чашках Петрі в термостаті при температурі +25°C впродовж 72 год. Для дослідження цитогенетичних ефектів використовували водні розчини 2-МБТ в концентраціях 0,0625; 0,125 та 0,250 мкг/мл. В контролі — дистильована H₂O. Концентрації препарату 0,500 і 1,00 мкг/мл в попередніх дослідженнях призводили до значного зменшення мітотичної активності клітин, що не дає змоги провести адекватний цитогенетичний аналіз. Після завершення експозиції з 2-МБТ матеріал (корінці довжиною 5–12 мм) фіксували у фіксаторі Кларка (етиловий спирт та оцтова кислота у співвідношенні 3:1). Матеріал витримували у фіксаторі при температурі +4°C не менше 2 годин. Для мікроскопічного аналізу готували тимчасові давлені препарати пофарбовані ацетоорсеїном за загальноприйнятими методиками [26, 27]. Проводили мікроскопічне вивчення меристематичної зони корінців в першому мітотичному циклі. Визначали частоту аберантних ана-телофаз (ЧАА), частоту аберацій, пошкодженість аберантної клітини, мітотичний індекс (МІ), розподіл клітин по фазах мітозу. Частоту аберацій визначали як кількість аберацій на 100 проаналізованих ана-телофаз:

$$ЧАА = n_a \cdot 100/n, \quad (1)$$

де n_a — кількість аберантних ана-телофаз, n — загальна кількість проаналізованих ана-телофаз.

Середню кількість аберацій на аберантну клітину, інколи цей показник називають пошкодженістю аберантної клітини (ПАК) визначали за відношенням загальної кількості аберацій до кількості аберантних клітин:

$$ПАК = N/n_a, \quad (2)$$

де N — загальна кількість аберацій, n_a — кількість аберантних ана-телофаз.

До аберантних відносили ана-телофази, що містили фрагменти і мости як показники кластогенного ефекту.

Мітотичний індекс як показник мітотичної активності кореневої меристеми визначали у відсотках за формулою:

$$MI = \frac{P+M+A+T}{I+P+M+A+T} \cdot 100 \%, \quad (3)$$

MATERIALS AND METHODS

Cytogenetic methods

Mutagenic, mitosis-modifying and toxic effects of 2-mercaptobenzothiazole (2-MBT) were evaluated in ana-telofaznomu test in root meristem cells of seedlings seeds *Allium cepa* L. Seeds were germinated in experimental solutions in Petri dishes in an incubator at + 25°C within 72 hours. To investigate cytogenetic effects aqueous solutions of 2-MBT concentrations 0.0625 mg/mL, 0.125 mg/mL and 0.250 mg/ml were used. Distilled H₂O was used in control. Drug concentration of 0.500 pg/ml and 1.00 pg/ml in previous studies led to a significant decrease of mitotic activity of cells that did not allow or adequate to perform cytogenetic analysis. After completion of the exposure of 2-MBT material (roots length 5–12 mm) was fixed in the Clark solution (ethanol and acetic acid in the ratio 3: 1). The material was kept in solution +4°C at least 2 hours. For microscopic analysis temporary strangled were prepared stained by aceto-orcein according to conventional methods [26, 27]. Microscopic study of meristematic zones of roots in the first mitotic cycle were carried out. We determined the frequency of aberrant ana-telophase (FAA), the frequency of aberrations, level of aberrant cells damage, mitotic index (MI), cell division in phases of mitosis. The frequency of aberrations was defined as the number of aberrations analyzed during 100 ana-telophase:

$$FAA = n_a \cdot 100/n, \quad (1)$$

where n_a — number of aberrant ana-telophase, n — total number of analyzed ana-telophase.

An average number of aberrations in aberrant cell, sometimes called the figure damage of aberrant cells (DAC) was determined by the ratio of the total number of aberrations to the number of aberrant cells:

$$DAC = N/n_a, \quad (2)$$

where N — total number of aberrations, n_a — number of aberrant ana-telophase.

To aberrant attributed ana-telophase containing fragments and bridges as indicators of clastogenic effect.

Mitotic index as an indicator of mitotic activity in root meristem percentage was determined by the formula

$$MI = \frac{P+M+A+T}{I+P+M+A+T} \cdot 100 \%, \quad (3)$$

де P, M, A, T, I – кількість клітин в стадії профази, метафази, анафази, телофази та інтерфази.

Цитологічні методи

Морфофункціональні зміни в клітинах досліджували з використанням тест-системи культури клітин лінії L₉₂₉ (інша назва NCTC-clone 929, Clone of strain L), яка була встановлена в 1948 році з родинного штаму L, що в свою чергу є одним з перших штамів підтримуваної культури та найбільш досліджуваним штамом. Первинний штаб був отриманий з нормальної підшкірної ареоллярної та жирової тканини 100-денної миші СЗН/Ан чоловічої статі. Клітини L₉₂₉ були обрані для дослідження через свою здатність до перманентного поділу, з метою створення моделі проліферативної тканини *in vitro*. Культивування здійснювали в повному поживному середовищі RPMI-1640, що містило 4 ммоль/л L-глютаміну, 10 % ембріональної сироватки теляти та 40 мкг/мл гентаміцину. Клітини вирощували при постійній температурі +37 °C на покривних скельцях розмірами (16 × 8) мм, які знаходилися на дні скляних пляшечок, до конфлуентного стану моношару.

Опромінення клітин проводили на апараті “Тератрон” (Канада) (джерело – ⁶⁰Co 1,2 Мев, потужність експозиційної дози 4,3 · 10⁻⁴ Кл/(кг·с), відстань до об’єкта 80 см) в дозах 1,0; 5,0 та 10,0 Гр через 24 години після посадки. 2-МБТ додавали за 1 год перед опроміненням в концентраціях 3,0; 0,3 та 0,03 мкг/мл та культивували впродовж 1–5 діб. Контролем слугували культури клітин без реагента.

Клітинні відповіді оцінювали у різні терміни культивування клітин за загальноприйнятими морфофункціональними показниками життєздатності: проліферативна і мітотична активність та кількість атипових багатоядерних клітин. Для цього під оптичним мікроскопом “Axioscop” (West Germany) при збільшенні у 400 і 1000 разів у межах сітки методом випадкових полів за С. Б. Стефановим підраховували загальну кількість клітин (щільність клітинної популяції), кількість мітозів і кількість гігантських багатоядерних (2 і більше ядер) клітин. Мітотичний індекс та індекс полікаріоцитів розраховували на 1000 клітин (%). Фото отримані за допомогою цифрової камери DIGITAL CAMERA for Microscope Science Lab DCM320 (USB 2.0), Resolution 3.5 Mpixels.

У тих же культурах клітин, в яких досліджували їх життєздатність, визначали кількість клітин на стадії апоптозу. Аналізували клітини на протоковому цитофлюориметрі FACStar Plus фірми “Becton Dickinson” (США). Апоптоз фіксували по гіподиплоїдному ДНК-піку, який чітко відділявся від нормального (дип-

where P, M, A, T, I – number of cells in prophase, metaphase, anaphase, telophase and interphase.

Cytological methods

Cells morphofunctional changes were investigated using the test system cell culture line L₉₂₉ (another name NCTC-clone 929, Clone of strain L), which was established in 1948 with family strain L, which in turn is one of the first strains of supported culture and the most studied strain. The original strain was obtained from normal subcutaneous fat areolarynoid and 100-day mouse C3H / An male. L₉₂₉ cells were selected for study because of its ability to permanent division, to create a model of proliferative tissues *in vitro*. Cultivation was carried out in complete nutrient medium RPMI-1640, which contained 4 mmol/l L-glutamine, 10% fetal calf serum and 40 ug/mL gentamicin. Cells were grown at a constant temperature of +37 °C in a piece of glass covering size (16 × 8) mm, which were at the bottom of the glass bottles, to confluent state monolayer.

Irradiation of cells was carried out on the machine “Teratron” (Canada) (source – ⁶⁰Co 1.2 MeV, exposure dose 4.3 · 10⁻⁴ C/(kg·c), the distance to the object 80 cm) at doses of 1.0, 5.0 and 10.0 Gy 24 hours after landing. 2-MBT was added for 1 hour before exposure to concentrations of 3.0; 0.3 and 0.03 mg/ml and cultured for 1–5 days. Cell culture without reagent served as a control.

Cell response was evaluated in different terms of culturing by conventional morphofunctional indicators of viability: proliferative and mitotic activity and the number of atypical multi-nuclei cells. To do this under an optical microscope “Axioscop” (West Germany) upon 400 and 1000 increase within the grid by random fields by S.B. Stefanov the total number of cells (cell population density), the number of mitosis and the number of giant multi (2 and more cores) cells were counted. Mitotic index and the index of polycariocytes was calculated for 1000 cells (%). Photo was obtained with a digital camera DIGITAL CAMERA for Microscope Science Lab DCM320 (USB 2.0), Resolution 3.5 Mpixels.

In those cell cultures in which the viability was studied, cell number at the stage of apoptosis was also determined. Analyzed cells in ductal cytometer FACStar Plus company “Becton Dickinson” (USA). Apoptosis was registered by hypodiploid DNA peak, clearly separated from normal

лоїдного) ДНК-піка. Оцінювали червону флуоресценцію (канал FL – 2) пропідіуму йодиду з довжиною хвилі $\lambda = 595$ нм не менш ніж для 10 000 клітин.

Оцінку ефективності радіопротекторних властивостей 2-МБТ проводили за фактором зменшення дози (ФЗД):

$$\Phi ЗД = ЛД_{50} (2-МБТ) / ЛД_{50} (контроль) \quad (4)$$

де $ЛД_{50}$ (2-МБТ) – доза радіації, за якої виживає 50 % клітин з радіопротектором, $ЛД_{50}$ (контроль) – доза радіації, за якої виживає 50 % клітин без нього, контроль.

Кількісною мірою ефективності дії радіопротектора є коефіцієнт захисту (Кз), який обчислюється як відношення різниці показників пошкодження системи без захисного фактора (E^-) та з ним (E^+) до значення ефекту без захисту за формулою:

$$Kз = (E^- - E^+) / E^-, \quad (5)$$

де E^- – виживаність клітин без радіопротектора, контроль; E^+ – з радіопротектором.

Статистичний аналіз вірогідності отриманих даних проводили за допомогою t-критерію Стьюдента [28], використовуючи комп'ютерні програми Microsoft Excel та Biostat з попередньою перевіркою гіпотези про нормальний закон розподілу випадкової величини за критерієм Колмогорова-Смірнова.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження радіопротекторних властивостей 2-меркаптобензотіазолу проводили у два етапи. На першому етапі досліджували зміни цитогенетичних показників в клітинах апікальної меристеми *Allium cepa* L. за умов пролонгованої дії (72 год) 2-МБТ в різних дозах. Вік насіння становив 9 місяців. Результати впливу радіомодифікатора на частоту аберантних ана-телофаз представлені в табл. 1.

З табл. 1 видно, що 2-МБТ в діапазоні досліджених концентрацій не проявляє мутагенних властивостей за критерієм частоти аберантних клітин. При цьому не відбувається й зниження рівня спонтанного мутагенезу. Результати аналізу цитогенетичних ефектів 2-МБТ за критеріями частота аберацій та пошкодженості аберантної клітини (ПАК) показали, що в усьому діапазоні досліджених концентрацій препарату частота аберацій достовірно не перевищувала значення цього показника в контролі.

Результати аналізу спектру аберацій хромосом в клітинах кореневої меристеми проростків насіння

(diploid) DNA peak. Also red fluorescence (channel FL – 2) of propidium iodide was evaluated with length $\lambda = 595$ nm in no less than 10,000 cells.

Evaluation of effectiveness of radioprotective properties of 2-MBT was conducted by dose reduction factor (DRF):

$$DRF = LD_{50} (2-MBT) / LD_{50} (control) \quad (4)$$

where LD_{50} (2-MBT) – radiation dose at which 50% cells with radioprotectors survive, LD_{50} (control) – radiation dose at which 50% of the cells survive without radioprotector, control.

Quantitative measure of the effectiveness of the radioprotector is protection factor (PF), which is calculated as the ratio of the difference between damage to the system parameters without protective factor (E^-) and with (E^+) to the value effect without protection by the formula:

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

where E^- – cell survival without radioprotector control; E^+ – with radioprotectors.

Statistical analysis of the likelihood of the data was performed using Student t-test [28], using the computer program Microsoft Excel and Biostat the previous test of the hypothesis of normal distribution of the random by the Kolmogorov – Smirnov criteria.

RESULTS AND DISCUSSION

Research of radioprotective properties of 2-mercaptobenzothiazole was performed in two steps. The first phase examined the performance of cytogenetic changes in apical meristem cells of *Allium cepa* L. under long term influence (72 hour) of 2-MBT in different doses. Age seed was 9 months. Radiomodifier influence results on the frequency of aberrant ana-telophase presented in Table 1.

Table 1 shows that the 2-MBT in the studied range of concentrations does not show mutagenic properties on the criterion of the frequency of aberrant cells. The reducing of spontaneous mutagenesis also is not happening. The analysis of cytogenetic effects of 2-MBT by criterias aberrations frequency and aberrant cells (DAC) damage showed that the upon influence of entire range of investigated drug concentrations the frequency of aberrations was not significantly higher than the value of this indicator in the control.

The analysis of the spectrum of chromosomal aberrations in root meristem cells of seedlings

Таблиця 1

Вплив 2-меркаптобензтіазолу на частоту аберантних ана-телофаз в клітинах кореневої меристеми *Allium cepa* L.

Table 1

Effect of 2-mercaptobenzothiazole on the frequency of aberrant ana-telophase root meristem cells *Allium cepa* L.

Концентрація 2-МБТ, мкг/мл	Проаналізовано клітин	Аберантні ана-телофази	Аберації	Частота аберантних ана-телофаз (ЧАА)	Частота аберацій	ПАК (пошкодженість аберантної клітини)
2-MBT concentration μg/ml	Cells analyzed	Aberrant ana-telophases	Aberrations	Frequency of aberrant ana-telophases	Frequency of aberrations	ACD (aberrant cell damage)
Контроль / control	561	8	9	1,43 ± 0,50	1,60 ± 0,53	1,13
0,0625	565	8	9	1,42 ± 0,50	1,59 ± 0,53	1,13
0,125	508	10	10	1,97 ± 0,62	1,97 ± 0,62	1,00
0,250	456	6	6	1,32 ± 0,53	1,32 ± 0,53	1,00

Таблиця 2

Спектр аберацій хромосом в клітинах кореневої меристеми *Allium cepa* L. при дії 2-МБТ

Table 2

The spectrum of chromosome aberrations in root meristem cells of *Allium cepa* L. under at 2-MBT action

Концентрація 2-МБТ, мкг/мл	Аберації хроматидного типу хроматидні “мости” одиночні фрагменти		Аберації хромосомного типу хромосомні “мости” парні фрагменти	
2-MBT concentration μg/ml	Chromatide-type aberrations chromatide “bridges” single fragments		Chromosome-type aberrations chromosome “bridges” pair fragments	
Контроль / control	1,07 ± 0,43	0,36 ± 0,25	0,17 ± 0,16	-
0,0625	1,06 ± 0,43	0,35 ± 0,26	-	0,18 ± 0,17
0,125	1,18 ± 0,48	0,79 ± 0,39	-	-
0,250	1,32 ± 0,53	-	-	-

Allium cepa L. при пророщуванні в розчинах 2-МБТ представлені в табл. 2.

Достовірних змін у представленому спектрі аберацій хромосом при дії 2-МБТ не виявлено.

Експериментальні дані щодо змін мітотичної активності клітин *Allium cepa* L. під впливом 2-МБТ представлені в табл. 3 та 4.

Спостерігається тенденція до зменшення мітотичної активності клітин кореневої меристеми при дії 2-МБТ в діапазоні досліджених концентрацій. Достовірні відмінності за цим критерієм виявлені лише при дії препарату у концентрації 0,250 мкг/мл ($p = 0,045$).

Аналіз значення мітотичного індексу супроводжувався дослідженням розподілу клітин за фазами мітозу. Привертає увагу, що дія препарату в усіх досліджених концентраціях призводить до збільшення метафазного індексу при зменшенні профазного, що свідчить про затримку клітин у мітозі під впливом 2-МБТ (див. табл. 4).

На другому етапі вивчали показники життєздатності у тест-системі культури перещеплюваних

seeds *Allium cepa* L. during germination in solutions of 2-MBT presented in Table 2.

No significant changes in the present range of chromosomal aberrations in action 2-MBT were found.

Experimental data on changes in the mitotic activity of cells of *Allium cepa* L. under the influence of 2-MBT is presented in Table 3 and 4.

There is a tendency to reduction of mitotic activity of root meristem cells under 2-MBT influence in the range of studied concentrations. Significant differences on this test detected only under drug action at a concentration of 0.250 mg/ml ($p = 0.045$).

Mitotic index value analysis was accompanied by research on cell division phases of mitosis. The effect of the drug in all investigated concentrations leads to increased metaphase index parallel to decreased profase index, indicating a delay in cell mitosis under the influence of MBT-2 (see Table 4).

In the second phase we studied viability of inoculated cell line L₉₂₉ culture test system. The results

Таблиця 3**Вплив 2-МБТ на мітотичну активність клітин *Allium cepa* L.****Table 3****Effect of 2-MBT on mitotic activity of cells *Allium cepa* L.**

Концентрація 2-МБТ, мкг/мл	Проаналізовано клітин	Мітотичних	MI, ‰
2-MBT concentration, µg/ml	Cells analyzed	Mitotic	
Контроль / control	1827	167	91,41 ± 6,74
0,0625	1726	138	79,95 ± 6,53
0,125	1905	159	83,47 ± 6,34
0,250	1566	123	78,54 ± 6,80*

Примітка. * – $p = 0,045$ порівняно з контролем.Note. * – $p = 0.045$ vs. control.**Таблиця 4****Розподіл клітин за фазами мітозу при дії 2-МБТ****Table 4****Cell division in phases of mitosis under action of 2-MBT**

Концентрація, мкг/мл	Профаза	Метафаза	Анафаза	Телофаза
Concentration, µg/ml	Prophase	Metaphase	Anaphase	Telophase
Контроль	40,12	17,37	12,57	29,94
0,0625	33,33	23,19	15,94	27,54
0,125	33,96	24,53	16,98	24,53
0,250	34,15	25,20	15,45	25,20

клітин лінії L₉₂₉. Результати експериментальних досліджень представлені на рис. 1–3. При інкубації клітин з 2-МБТ у різних концентраціях не було виявлено статистично достовірної зміни ($p \leq 0,05$) щільності клітинної популяції у моношарових культурах (рис. 1), лише тенденцію до зміни при збільшенні вмісту реагента. Водночас слід відмітити для усіх застосованих концентрацій 2-МБТ стимуляцію мітотичної активності на термінальній (5-а доба) стадії культивування (рис. 2). Якщо проаналізувати кількість апоптотичних клітин у тест-системі (рис. 4), то помітно статистично достовірне збільшення їх кількості при підвищенні концентрації реагента. Цим можна пояснити сталу кількість клітин в культурі при істотному підвищенні мітотичної активності. Наразі слід звернути увагу на тенденцію до зменшення (порівняно з інтактними культурами клітин) кількості полікаріоцитів за умови присутності в поживному середовищі 2-МБТ (рис. 3).

Після опромінення клітин гамма-квантами ⁶⁰Co в дозах 1, 5 та 10 Гр спостерігали дозозалежне зменшення показників життєздатності, а саме (див. рис. 1): щільність клітинної популяції зменшилась у 1,4–4 рази (відповідно до збільшення дози радіації), а мітотичний індекс – від 3 до 32 разів (див. рис. 2). Водночас кількість атипових полікаріоцитів підви-

of experimental studies are presented in Fig. 1–3. Incubating cells with 2-MBT in different concentrations leads to any statistically significant changes ($p \leq 0.05$) in cell population density in monolayer cultures (Fig. 1) only tends to change with increasing content of reagent. It should be noted significant stimulation of mitotic activity for all applied concentrations of 2-MBT in the terminal (5 days) stage of cultivation (Fig. 2). If we analyze the number of apoptotic cells in the test system (Fig. 4), it is evident a statistically significant increase in their number with increasing concentrations of the reactants. This may explain the constant number of cells in culture with a significant increase in mitotic activity. Also you should pay attention to the trend (compared with intact cell culture) of decrease number of giant polycariocytes with 2-MBT in culture medium (Fig. 3).

After irradiation, cells gamma quanta of ⁶⁰Co in doses of 1, 5 and 10 Gy we observed a dose-dependent decrease of sustainability, namely (see Fig. 1): the density of the cell population decreased in 1.4–4 times (according to the increase of radiation dose) and mitotic index – from 3 to 32 times (see Fig. 2). At the same time

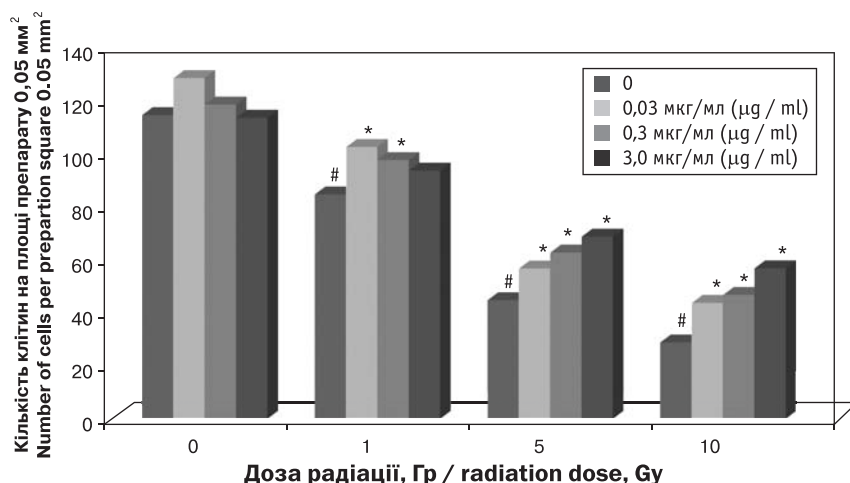


Рисунок 1. Фракція клітин, що вижили на 5-ту добу в моношарових культурах клітин L₉₂₉ при інкубації з 2-МБТ у різних концентраціях та після опромінення гамма-квантами ⁶⁰Со в різних дозах

Примітки. # – різниця достовірна порівняно з інтактними клітинами ($p \leq 0,05$); * – різниця достовірна порівняно з опроміненням ($p \leq 0,05$).

Figure 1. Fraction of cells that survived on 5th day in monolayer cell cultures during incubation of L₉₂₉ with 2-MBT in different concentrations and after irradiation ⁶⁰Co gamma quanta in different doses

Notes. # – significant difference compared to intact cells ($p \leq 0,05$); * – significant difference compared with radiation ($p \leq 0,05$).

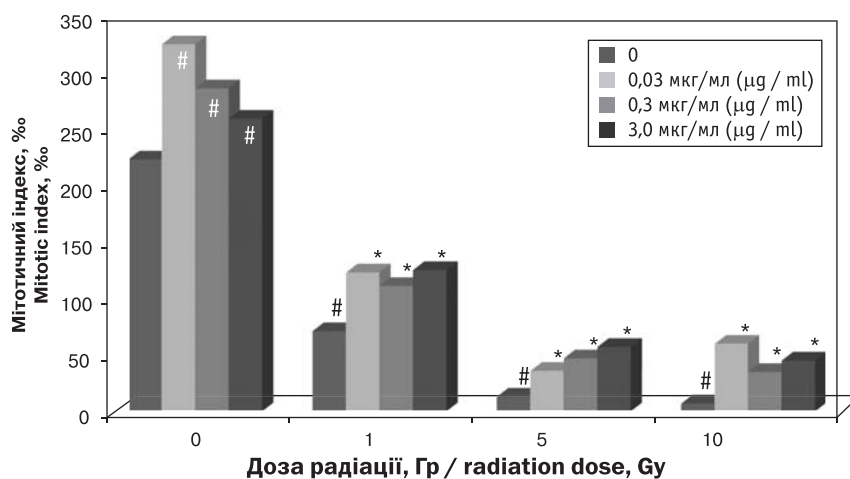


Рисунок 2. Радіомодифікуючий вплив 2-МБТ у різних концентраціях на мітотичну активність клітин лінії L₉₂₉

Примітки. # – різниця достовірна порівняно з інтактними клітинами ($p \leq 0,05$); * – різниця достовірна порівняно з опроміненням ($p \leq 0,05$).

Figure 2. Radio modifying effect of 2-MBT in different concentrations on mitotic activity in cell line L₉₂₉

Notes. # – significant difference compared to intact cells ($p \leq 0,05$); * – significant difference compared with radiation ($p \leq 0,05$).

щилась в 1,4–4 рази (див. рис. 3), а кількість апоптотичних клітин зі збільшенням дози опромінення зросла у 2–3 рази порівняно з інтактними культурами клітин.

Слід зауважити, що в присутності 2-МБТ в опроміненіх культурах клітин спостерігали значно меншу кількість полікаріоцитів порівняно з опроміненням (рис. 3), що може вказувати на генопро-

the number of atypical polycariocytes increased in 1.4–4 times (see Fig. 3) and the number of apoptotic cells upon doses increase also increased 2–3 times compared to the intact cell culture.

It should be noted that upon presence of 2-MBT in the irradiated cell cultures we observed significantly fewer polycariocytes compared with irradiation (Fig. 3), which may indicate gene-protective

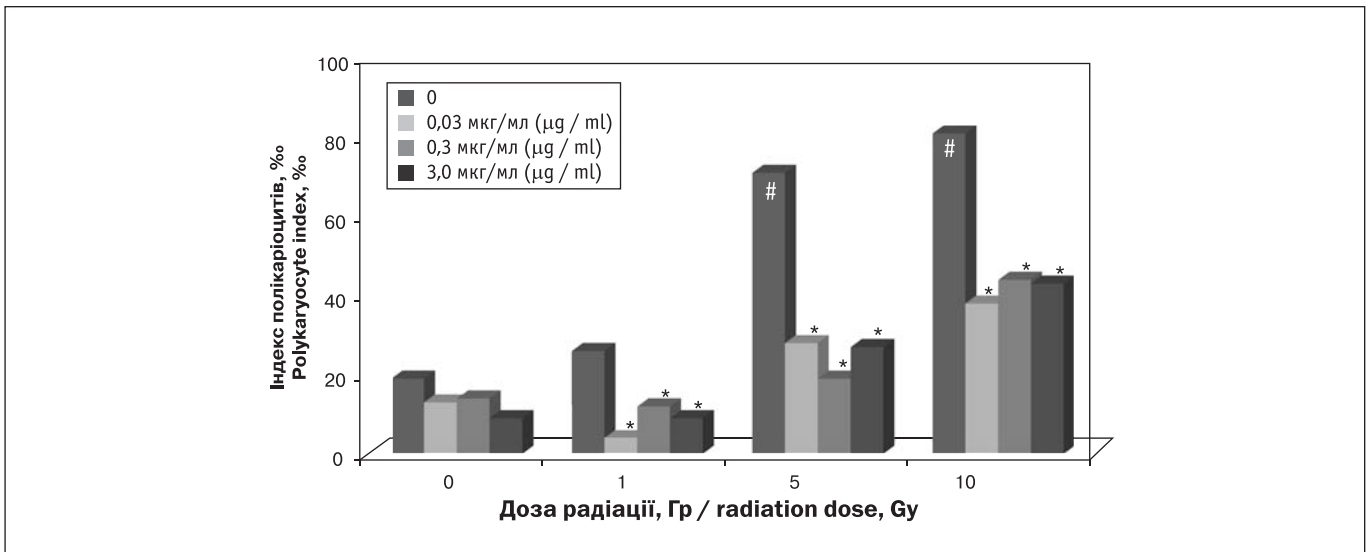


Рисунок 3. Дозова залежність індукції гігантських багатоядерних клітин в культурі клітин лінії L_{929} при інкубації з 2-МБТ в різних концентраціях та опроміненні гамма-квантами ^{60}Co в різних дозах

Примітки. # – різниця достовірна порівняно з інтактними клітинами ($p \leq 0,05$); * – різниця достовірна порівняно з опроміненням ($p \leq 0,05$).

Figure 3. Dose dependent induction of giant multi-cell lines in cell culture L_{929} incubated with 2-MBT in different concentrations and irradiated with ^{60}Co gamma quanta in different doses

Notes. # – significant difference compared to intact cells ($p \leq 0,05$); * – significant difference compared with radiation ($p \leq 0,05$).

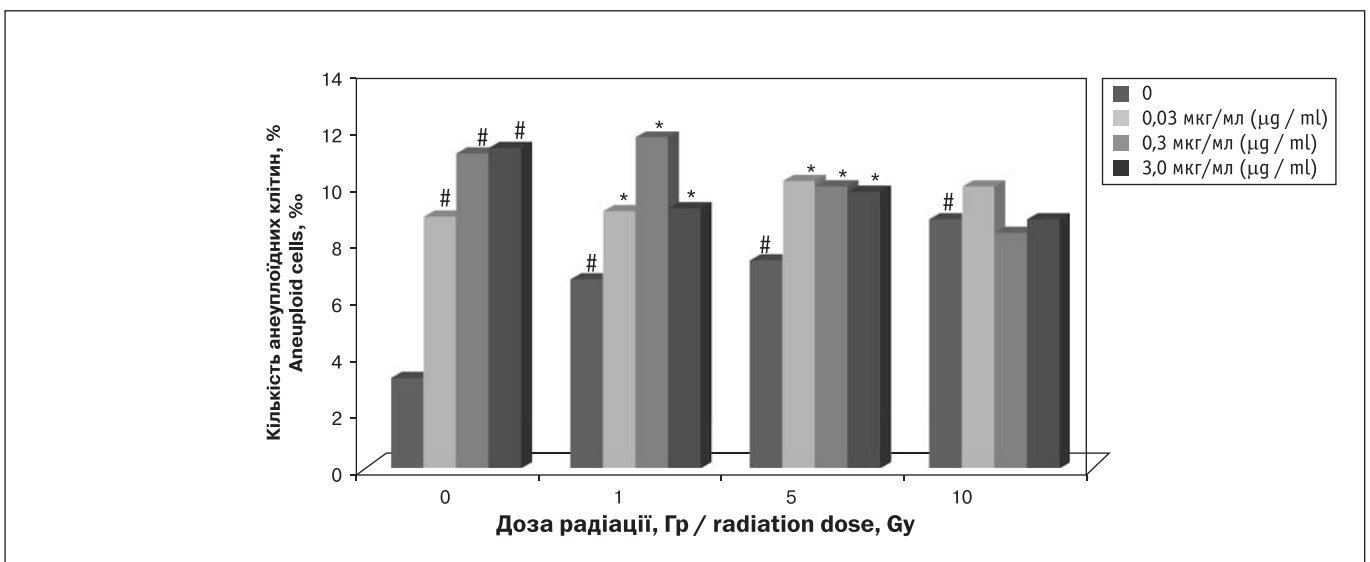


Рисунок 4. Дозова залежність кількості апоптотичних клітин в культурі клітин лінії L_{929} при інкубації з 2-МБТ в різних концентраціях та опроміненні в дозах 1, 5 та 10 Гр

Примітки. # – різниця достовірна порівняно з інтактними клітинами ($p \leq 0,05$); * – різниця достовірна порівняно з опроміненням ($p \leq 0,05$).

Figure 4. Dose dependence of the number of apoptotic cells in cell culture line L_{929} during incubation with 2-MBT in different concentrations and irradiation doses of 1, 5 and 10 Gy

Notes. # – significant difference compared to intact cells ($p \leq 0,05$); * – significant difference compared with radiation ($p \leq 0,05$).

текторні властивості реагента. За літературними даними [29], атипові багатоядерні клітини у культурі клітин лінії L_{929} вважаються маркерами репродуктивної загибелі клітин.

Визначення рівня апоптозу у культурі опромінених клітин в присутності 2-МБТ (рис. 4) показало статистично достовірне збільшення кількості апоп-

properties of reagent. According to the literature [29] multi atypical cells in L_{929} cell culture line are considered to be markers of reproductive cell death.

Determining of apoptosis level in irradiated cell culture in the presence of 2-MBT (Fig. 4) showed a statistically significant increase in the number of

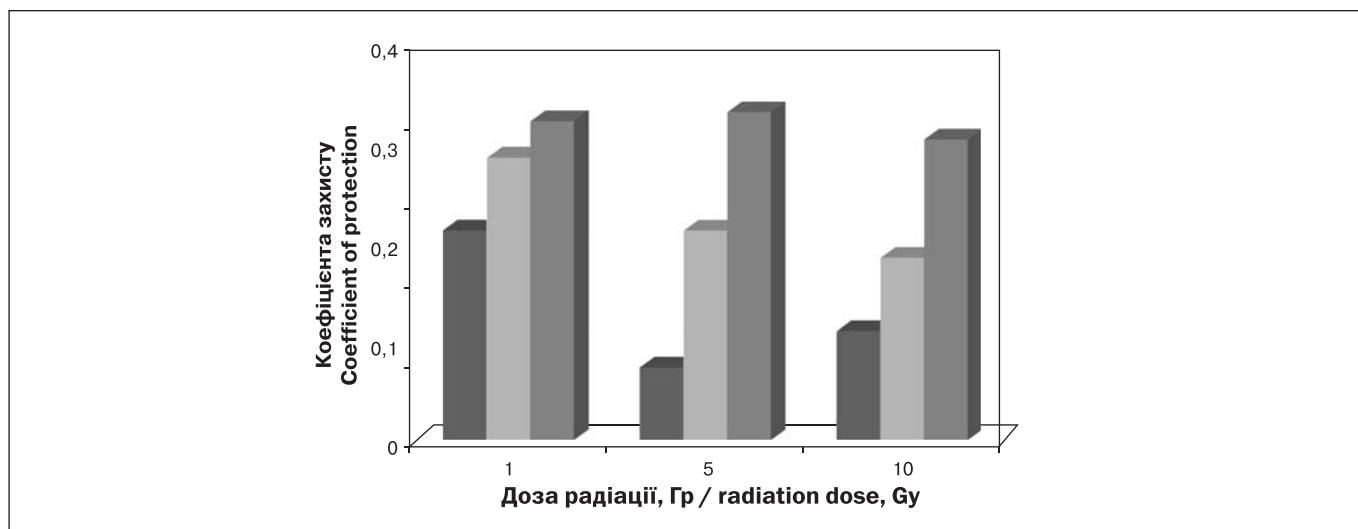


Рисунок 5. Залежність коефіцієнта захисту при дії різних концентрацій 2-МБТ на опромінені в різних дозах клітини лінії L₉₂₉

Figure 5. Dependence of protection under the influence of different concentrations of 2-MBT on L₉₂₉ cell line exposed to different doses

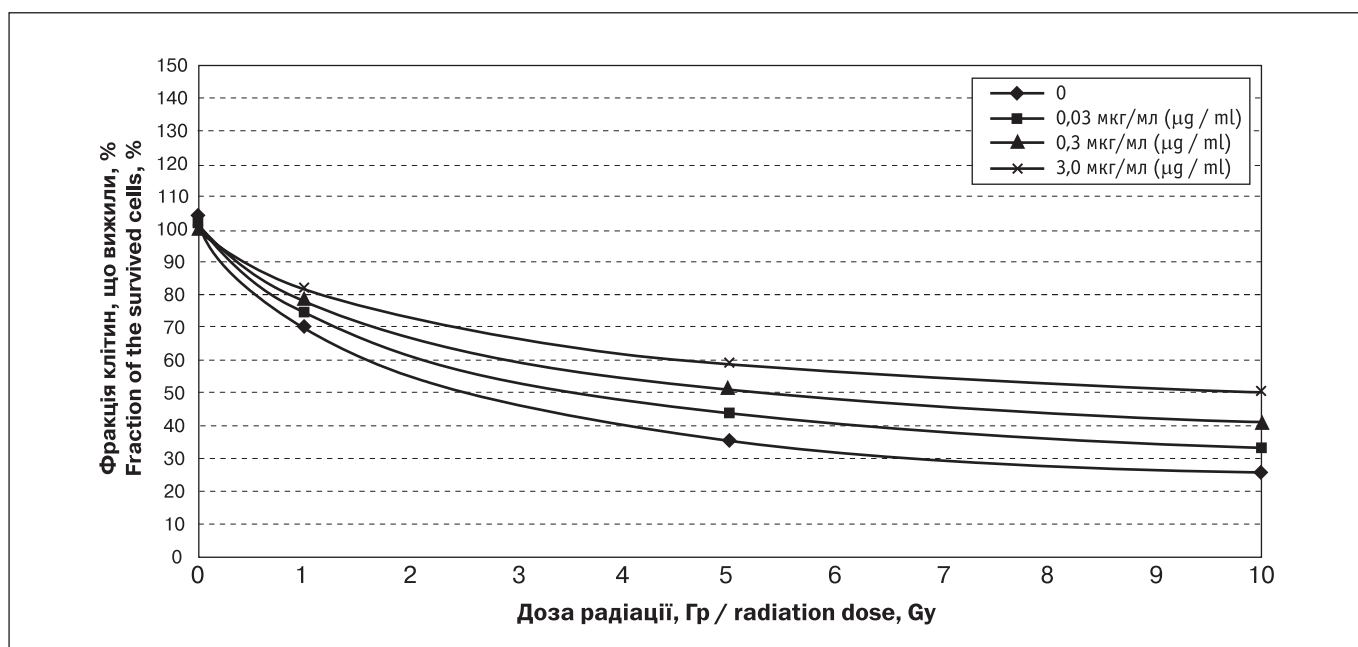


Рисунок 6. Дозова залежність кількості клітин, що вижили, за умов інкубації з 2-меркаптобензтіазолом в різних концентраціях

Figure 6. The dose dependence of the number of cells surviving under conditions of incubation with 2-mercaptobenzothiazole in different concentrations

тотичних клітин тільки після опромінення в дозах 1 та 5 Гр ($p \leq 0,05$). Після опромінення клітин в дозі 10 Гр в присутності 2-МБТ статистично достовірних змін апоптозу не спостерігали при порівнянні тільки з опроміненням. Загальновідомо, що першочергового значення при апоптозі за дії різних агентів набуває селективне видалення тих клітин, виживання яких загрозливе для цілісного організму.

apoptotic cells soon after irradiation at doses of 1 and 5 Gy ($p \leq 0.05$). After irradiation of cells in a dose of 10 Gy in the presence of 2-MBT statistically significant changes in apoptosis were not observed compared only with irradiation. It is well known that primary importance of apoptosis under the influence of different agents - selective removal of cells, which are threatening to the survival of the whole organism.

Згідно зі способами оцінки ефективності радіопротекторів за відсотком загиблих клітин був розрахований коефіцієнт захисту залежно від концентрації 2-МБТ (рис. 5). Найвищі значення коефіцієнта захисту (0,31–0,36), спостерігали після опромінення клітин в дозі 1 Гр та за найвищої концентрації реагента – 3 мкг/мл. Ефективність захисту клітин при найнижчій концентрації 2-МБТ – 0,03 мкг/мл, зменшувалась зі збільшенням дози опромінення. Аналогічну тенденцію, але менш виражену, спостерігали і для концентрації 0,3 мкг/мл.

За виживанням клітин у моношарових культурах (рис. 6) був розрахований фактор зменшення дози – ФЗД при різних концентраціях реагента. Розрахунки показали, що при концентраціях 2-МБТ 0,03 та 0,30 мкг/мл фактор зменшення дози за ЛД₅₀ мав значення 1,5 та 1,8 відповідно, а за концентрації 3,00 мкг/мл ФЗД був максимальний – 4. Тобто, інкубація клітин з 2-МБТ в концентрації 3,00 мкг/мл у 4 рази зменшує пошкоджуючий ефект опромінення в дозі 10 Гр.

Отже, за комплексом цитогенетичних та морфологічних показників у *Allium*-тесті (меристема проростків насіння) та тест-системі культури проліферуючих клітин лінії L₉₂₉ 2-меркаптобензотіазол (Мібентол) у фізіологічних для цих клітин концентраціях не має мутагенних чи токсичних властивостей та підвищує життєздатність клітин, опромінених у середньо- та сублетальних дозах: збільшує їх виживаність і мітотичну активність у моношарових культурах порівняно тільки з опроміненням. Зменшення кількості атипових багоядерних клітин за цих умов може свідчити про його генопротекторні властивості.

Щодо ймовірних механізмів радіопротекторної дії 2-меркаптобензотіазолу на клітинному рівні, то, зважаючи на літературні дані [3–5] та результати власних досліджень, саме розрив дисульфідного зв'язку в молекулі реагента з подальшим знешкодженням вільних перекисних радикалів, які утворюються при дії радіації, що у подальшому призводить до зрушень у метаболізмі опромінених клітин (пригнічення біосинтезу та стабілізації ДНК, зниженні мітотичної активності, активації репаративних процесів), сприяє їх відновленню після опромінення та репопуляції.

ВИСНОВКИ

1. Проведені дослідження показали, що в ана-телофазному тесті в клітинах кореневої меристеми проростків насіння *Allium cepa* L. 2-меркаптобензотіазол

According to the methods for evaluating of radio-protectors effectiveness by percentage of dead cells was calculated ratio of protection depending on the concentration of 2-MBT (Fig. 5). Highest value PF (0.31–0.36) was observed after exposure of cells in a dose of 1 Gy and the highest concentration of reagent – 3 mg/ml. The effectiveness of the protection of cells at the lowest concentration of 2-MBT – 0.03 mg/ml, decreased with increasing radiation dose. A similar trend, but less pronounced, was observed for the concentration of 0.3.

On the survival of cells in monolayer cultures (Fig. 6) was calculated dose reduction factor - FDD at different concentrations of reagents. Calculations showed that at concentrations of 2-MBT 0.03 and 0.30 mg/ml dose reduction factor for the LD₅₀ value was 1.5 and 1.8 respectively, and the concentration of 3.00 mg/ml FDD was the maximum – 4. That is, incubation of cells with 2-MBT in the 3.00 mg/ml concentrations 4 times reduces the damaging effects of radiation in doses of 10 Gy.

So, for complex cytogenetic and morphological parameters in *Allium*-test (meristem seedling seed) and proliferating cell line L₉₂₉ test-culture system 2-mercaptobenzothiazole (Mebentol) in physiological for these cell concentrations has no mutagenic or toxic properties and increases the viability of cells exposed in the medium and sublethal doses, increases their survival and mitotic activity in monolayer cultures compared with only irradiation. Reducing the number of multi atypical cells under these conditions may indicate its gene-protecting properties.

Regarding the possible mechanisms of 2-mercaptobenzothiazole radioprotective action at the cellular level, based on published data [3–5] and the results of own research, namely break of disulfide bonds in the molecule reagent with subsequent disposal of peroxide free radicals, which are formed by the action of radiation, which further leads to changes in the metabolism of exposed cells (inhibition of DNA biosynthesis and stabilization, lower mitotic activity, activation reparative processes), promotes their recovery after exposure and repopulation.

CONCLUSIONS

1. Studies have shown that ana-telofase test in the seedling root meristem cells of *Allium cepa* L. seeds 2-mercaptobenzothiazole showed no

не проявляв мутагенних, мітозмодифікуючих чи токсичних ефектів у фізіологічних для цих клітин концентраціях. Надмірна кількість реагента призвела до зменшення мітотичної активності клітин меристеми, що може вказувати на можливий механізм протекторної дії.

2. Встановлено, що 2-меркаптобензтіазол у фізіологічних для клітин концентраціях (3,00–0,003 мкг/мл) не змінює щільності клітинної популяції в моношарових культурах клітин, але підвищує мітотичну активність у термінальний період культивування (5–6-а доба). Збільшення кількості апоптотичних клітин у цей період пояснює сталу кількість клітин в культурі.

3. Після опромінення клітин в дозах 1, 5 і 10 Гр спостерігали дозозалежне зменшення їх проліферативної та мітотичної активності та істотне зростання в культурі клітин (у 4 рази) кількості полікаріоцитів, яких вважають маркерами репродуктивної загибелі. Збільшення рівня апоптозу в опромінених культурах проліферуючих клітин свідчить про радіогенний характер їх загибелі.

4. Показано, що інкубація клітин до та під час опромінення з 2-меркаптобензтіазолом зменшує радіоіндуковані ушкодження клітин: підвищує проліферацію та мітотичну активність порівняно з дією тільки радіації. Зменшення кількості полікаріоцитів у культурі клітин вказує на генопротекторні властивості реагента. Водночас підвищений рівень апоптозу за цих умов свідчить про елімінацію ушкоджених радіацією клітин з культури.

5. Кількісна оцінка радіопротекторних властивостей 2-меркаптобензтіазолу у тест-системі культури клітин лінії L₉₂₉ показала, що найвищі показники коефіцієнта захисту (0,31–0,36) реагент показав при концентрації 3 мкг/мл при опроміненні в дозі 1 Гр. Водночас фактор зменшення дози, розрахований за ЛД₅₀, при концентраціях 2-МБТ 0,03 та 0,30 мкг/мл мав значення 1,5 та 1,8 відповідно, а за концентрації 3,00 мкг/мл ФЗД був максимальний – 4.

6. За сукупністю даних літератури та результатів власних досліджень можна вважати 2-меркаптобензтіазол реагентом з радіопротекторними властивостями для клітин *in vitro*.

mutagenic, toxic or mitosis-modifying effects in physiological concentrations for these cells. Excessive amounts of reagent led to a decrease in mitotic activity of meristem cells that could indicate a possible mechanism of protective action.

2. It is established that 2-mercaptobenzothiazole for cells in physiological concentrations (3.00–0.003 mg/ml) does not change the cell population density in monolayer cell cultures, but increases mitotic activity in the terminal period of cultivation (5–6 days). Increasing number of apoptotic cells in this period explains the constant number of cells in culture.

3. After cells irradiation in doses of 1, 5 and 10 Gy a dose-dependent reduction of their proliferative and mitotic activity was observed as well as significant growth in cell culture (4 times) of polycariocytes number which are considered to be reproductive death markers. The increase in apoptosis in irradiated cultures of proliferating cells demonstrates the radiogenic nature of their death.

4. It is shown that incubation of cells before and during irradiation with 2-mercaptobenzothiazole reduces radiation induced cell damage, promotes proliferation and mitotic activity compared with the effect of radiation only. Reducing number of polycariocytes in cell culture indicates gene-protective properties of reagent. However, elevated levels of apoptosis in these conditions show the elimination of radiation damaged cells from the culture.

5. Quantitative estimation of radioprotective properties of 2-mercaptobenzothiazole in the test system of L₉₂₉ cell line culture showed that the highest rates of protection factor (0.31–0.36) were shown by the reagent at a concentration of 3 mg/ml under the 1 Gy irradiation dose. However, the dose reduction factor calculated for the LD₅₀ at 2-MBT concentrations 0.03 and 0.30 mg/ml had a value of 1.5 and 1.8 respectively, and at concentration of 3.00 mg/ml FDD was the maximum i.e. 4.

6. On the strength of all the evidence of literature and the results of their research can be considered 2-mercaptobenzothiazole reagent with radioprotective properties for cells *in vitro*.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Куна П. Химическая радиозащита / П. Куна. – М. : Медицина, 1995. – 191 с.
2. Ярмоненко С. П. Протилучевая защита организма / С. П. Ярмоненко. – М. : Атомиздат, 1997. – 195 с.

REFERENCES

1. Kuna P. [Chemical Radioprotection]. Moskva: Meditsina; 1995. 191 p. Russian.
2. Yarmolenko SP. [Antiradiation protection of the organism]. Moskva: Atomizdat; 1997. 195 p. Russian.

3. Владимиров В. Г. Радиопротекторы: Структура и функция / В. Г. Владимиров, И. И. Красильников, С. В. Арапов. — К. : Наук. думка, 1989. — 261 с.
4. Гончаренко Е. Н. Химическая защита от лучевого поражения / Е. Н. Гончаренко, Ю. Б. Кудряшов. — М. : Изд-во МГУ, 1985. — 249 с.
5. Барабой В. А. От Хиросимы до Чернобыля / В. А. Барабой. — К. : Наук. думка, 1991. — 122 с.
6. Gudkov A. V. Radioprotection: smart games with death / A. V. Gudkov, E. A. Komarova // J. Clin. Invest. — 2010. — Vol. 120(7). — P. 2270–2273.
7. Бебешко В. Г. Радиопротектори, як засоби мінімізації наслідків Чорнобильської катастрофи / В. Г. Бебешко, Д. А. Базики // Медичні наслідки аварії на Чорнобильській атомній електростанції / за ред. О. Ф. Возіанова, В. Г. Бебешко, Д. А. Базики. — К. : ДІА, 2007. — С. 689–707.
8. Расина Л. Н. Некоторые итоги и перспективы разработки противолучевых препаратов в ряду гетероциклических соединений / Л. Н. Расина // Діагностика та профілактика негативних наслідків радіації : матеріали 3-го симпозіуму, Київ, 1997. — К. : Ін-т експериментальної радіології НЦРМ АМН України, Міжнародна організація "Жіноча громада", 1997. — С. 196–200.
9. Гребенюк А. Н. Проблемы и перспективы современной радиационной фармакологии / А. Н. Гребенюк // Материалы VII Съезда по радиационным исследованиям (радиобиология, радиоэкология, радиационная безопасность) : тезисы докладов, Москва, 2014. — М. : РУДН. — 2014. — С. 8.
10. Создание нового поколения радиозащитных средств на основе химических ингибиторов NO-синтазы / А. А. Мандругин, Г. С. Борисова, М. В. Филимонова, Л. И. Шевченко // Материалы VII Съезда по радиационным исследованиям (радиобиология, радиоэкология, радиационная безопасность) : тезисы докладов, Москва, 2014. — М. : РУДН. — 2014. — С. 158.
11. Поиск противолучевых средств и индикаторов их эффективности на модели пролонгированного облучения мишей с низкой мощностью дозы / Л. М. Рождественский, В. Ф. Михайлов, Т. Г. Шлякова [др.] // Материалы VII Съезда по радиационным исследованиям (радиобиология, радиоэкология, радиационная безопасность) : тезисы докладов, Москва, 2014. — М. : РУДН. — 2014. — С. 169.
12. Васин М. В. Классификация противолучевых средств как отражение современного состояния и перспективы развития радиационной фармакологии // Радиационная биология. Радиоэкология. — 2013. — Т. 53, № 6. — С. 459–468.
13. 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.
14. Влияние препарата Б-190 и интерлейкина-1 β на динамику количества клеток периферической крови и функциональный статус нейтрофилов облученных мишей / А. Н. Гребенюк, Н. В. Аксенова, В. В. Зацепин [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. — 2013. — Т. 53, № 6. — С. 290–296.
3. Vladimirov VG, Krasilnikov II, Arapov SV. [Radioprotectors: Structure and Function]. Kyiv: Naukova Dumka; 1989. 261 p. Russian.
4. Goncharenko EN, Kudryashov YuB. [Chemical protection against radiation damage]. Moskva: Izd-vo MGU; 1985. 249 p. Russian.
5. Baraboy VA. [From Hiroshima to Chernobyl]. Kyiv: Naukova Dumka; 1991. 122 p. Russian.
6. Gudkov AV, Komarova EA. [Radioprotection: smart games with death] // J. Clin. Invest. 2010;120(7):2270-3.
7. Bebeshko VG. [Radioprotectors as a means of minimizing the consequences of the Chernobyl disaster]. In: Vozianov AF, Bebeshko VG, Bazyka DA, editors. [Medical consequences of the accident in Chornobyl nuclear power plant]. Kyiv: DIA; 2007. p. 689-707. Ukrainian.
8. Rasina LN. [Some results and prospects of the development of radioprotective drugs in a series of heterocyclic compounds]. In: Diagnostyka ta profilaktyka negatyvnyh naslidkiv radiatsiyi: materialy 3th symposiumu. Kyiv; 1997. K.: In-t eksperymentalnoyi radiologiyi NRCM AMN Ukrainy, Mizhnarodna organizatsiya "Zhinocha gromada"; 1997. p. 196-200. Ukrainian.
9. Grebenyuk AN. [Problems and perspectives of modern radiation pharmacology]. In: Proceedings of the VII Congress on radiation research (radiobiology, radioecology, radiation safety): abstracts; 2014; Moskva, RU. Moscow: RUDN; 2014. p. 8. Russian.
10. Mandrugina AA, Borisova GS, Filimonov MF, Shevchenko LI. [Creating a new generation of radioprotective substances on the basis of chemical inhibitors of NO-synthase]. In: Proceedings of the VII Congress on radiation research (radiobiology, radioecology, radiation safety): abstracts; 2014; Moskva, RU. Moscow: RUDN; 2014. p. 158. Russian.
11. Rozhdestvenskiy LM, Mikhaylov VF, Shlyakova TG, et al. [Search radioprotective drugs and indicators of their performance in the mice model of prolonged exposure to low dose rate]. In: Proceedings of the VII Congress on radiation research (radiobiology, radioecology, radiation safety): abstracts; 2014; Moskva, RU. Moscow: RUDN; 2014. p. 169. Russian.
12. Vasin MV. [Classification of radioprotective agents as a reflection of the current state and prospects of development of radiation pharmacology]. Radiats. Biol. Radioekol. 2013;53(6):459-68. Russian.
13. Koterov AN. [Problems of fundraising radioprotective protection rights in the light of aging genetics dostrizheny]. Radiats. Biol. Radioekol. 2013;53(6):487-95. Russian.
14. Grebenyuk AN, Aksenov NV, Zatsepin WV. [Influence of preparation B-190 and IL-1 β on the dynamics of the number of cells of peripheral blood and functional status of neutrophils irradiated mice]. Radiats. Biol. Radioekol. 2013;53(6):290-6. Russian.
15. Rozhdestvenskiy LM, Shlyakova TG, Shchegoleva RA, Lisina NI, Zorin W. [Assessment of therapeutic efficacy of domestic

15. Оценка лечебной эффективности отечественных препаратов Г-КСФ в опытах на облученных собаках / Л. М. Рождественский, Т. Г. Шлякова, Р. А. Щеголева [и др.] // Радиационная биология. Радиозащита. — 2013. — Т. 53, № 6. — С. 47.
16. Васин М.В. Потенциальная роль фактора неравномерности поглощения энергии ионизирующего излучения в организме в эффективности противолучевых препаратов / М.В. Васин // Мед. радиология и радиационная безопасность. — 2011. — Т. 56, № 4. — С. 60–70.
17. Атаманюк Н. П. Скринінг препаратів для зниження вмісту радіонуклідів в організмі / Діагностика та профілактика негативних наслідків радіації // Матеріали 3-го симпозиуму, Київ, 1997. — К. : Ін-т експериментальної радіології НЦРМ АМН України, Міжнародна організація "Жіноча громада", 1997. — С. 13–15.
18. Kouvaris J. R. Amifostine: The first selective-target and broad-spectrum radioprotector / J. R. Kouvaris, V. E. Kouloulis, L. J. Vlahos // The Oncologist. — 2007. — Vol. 12. — P. 738–747.
19. Kuna P. Amifostine (WR-2721) as a radioprotector for the emergency workers / P. Kuna, L. Navratil, J. Singer // Сучасні проблеми радіаційних досліджень : матеріали 35-ї щорічної конференції Європейського товариства з радіаційних досліджень, Київ, 2006. — К. : Ін-т клітинної біології та генетичної інженерії НАН України. — 2007. — С. 211–223.
20. Сравнительное изучение эффективности гепарина, интерлейкина-1 β , β -эстрадиола и индометовена в качестве радиопротекторов при остром облучении / А. Н. Гребенюк, В. А. Мясников, В. В. Зацепин [и др.] // Вестн. Рос. воен.-мед. акад. — 2011. — № 4. — С. 101–104.
21. Радіаційні ураження і радіопротектори / М. Дружина, А. Мойсєєв, А. Липська, Ю. Гриневич // Вісн. НАН України. — 2005. — № 4. — С. 17–24.
22. Аклеев А. В. Основные заключения по радиобиологическим эффектам для целей радиационной защиты / А. В. Аклеев // Радиационная биология. Радиозащита. — 2011. — Т. 51, № 5. — С. 501–511.
23. Зацепин В.В. Экспериментальная оценка радиозащитной эффективности комбинированного применения препаратов с различными механизмами противолучевого действия при остром облучении // Материалы VII Съезда по радиационным исследованиям (радиобиология, радиозащита, радиационная безопасность) : тезисы докладов, Москва, 2014. — М. : РУДН. — 2014. — С. 143.
24. Васин М. В. Радиомодуляторы как важный компонент биологической защиты от поражающего действия ионизирующего излучения / М. В. Васин // Материалы VII Съезда по радиационным исследованиям (радиобиология, радиозащита, радиационная безопасность) : тезисы докладов, Москва, 2014. — М. : РУДН. — 2014. — С. 136.
25. Сенюк О. Ф. Радіозахисні ефекти меланін-глюканового комплексу з Fomesfomentarius та індраліну при опроміненні мишей balb/c дозою 5,95 Гр/8,5 хв / О. Ф. Сенюк, О. В. Ковальов, Л. А. Паламар [та ін.] // Ядерна фізика та енергетика. — 2014. — Т. 15, № 2. — С. 178–188.
26. Довгалюк А.И. Оценка фито-и цитотоксической активности соединений тяжелых металлов и алюминия с помощью корневой апикулярной меристемы лука / А.И. Довгалюк, Т.Б. Калиняк, Я.Б. Блюм // Цитология и генетика. — 2001. — Т. 35, № 1. — С. 3–9.
27. Fiskesjo G. The Allium test as a standard in environmental monitoring // Hereditas. — 1985. — Т. 102. — P. 99–112.
- preparations of G-CSF in experiments on dogs irradiated] Radiats. biol. Radioekol. 2013;53(6);47. Russian.
16. Vasin MV [Potential role of the factor of uneven energy absorption of ionizing radiation in the body in the effectiveness of radioprotective drugs] Med. radiologiya i radiats. bezopasnost. 2011;56(4):60-70. Russian.
17. Atamanyuk NP. [Skrining preparativ for znizhennya vmistu radionuklidiv in organizmi]. In: Diagnostyka ta profilaktyka negatyvnykh naslidkiv radiatsiyi : materialy 3-go sympoziumu; 1997; Kyiv. Kyiv: In-t eksperymentalnoyi radiologiyi NTSRM AMN Ukrainy, Mizhnarodna organizatsiya "Zhinocha gromada"; 1997. p. 13-5. Ukrainian.
18. Kouvaris JR, Kouloulis VE, Vlahos LJ. [Amifostine: The first selective-target and broad-spectrum radioprotector]. The Oncologist. 2007;12:738-47.
19. Kuna P, Navratil L, Singer J. [Amifostine (WR-2721) as a radioprotector for the emergency workers]. In: Modern problems of radiation research materials 35th annual conference of the European Society of Radiation Research; 2006; Kyiv. Kyiv: Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, NAS of Ukraine; 2007. p. 211-23. Ukrainian.
20. Grebenyuk AN, Myasnikov VA, Zatsepin WV, et al. [A comparative study of the effectiveness of heparin, interleukin-1 β , β -estradiol and indometofena as radiation protectors in acute irradiation]. Bulletin of the Russian Military Medical Academy. 2011;(4):101-4. Russian.
21. Druzhyna M, Moysyeyev A, Lyska A, Hrynevych YU. [Radiation damage and radioprotectors]. Visnyk of the Visnyk National Academy of Sciences of Ukraine. 2005;(4):17-24. Ukrainian.
22. Akleyev AV. [Main findings on the radiobiological effect for the purposes of radiation protection]. Radiats. biol. Radioekol. 2011;51(5):501-11. Russian.
23. Zacepin WV. [Experimental Evaluation of radioprotective efficiency of the combined use of drugs with different mechanisms of radioprotective action in acute irradiation]. In: Proceedings of the VII Congress on radiation research (radiobiology, radioecology, radiation safety): abstracts; 2014; Moskva, RU. Moscow: RUDN; 2014. p. 143. Russian.
24. Vasin MV. [Radio-modulators as an important component of biological protection from the harmful effects of ionizing radiation]. In: Proceedings of the VII Congress on radiation research (radiobiology, radioecology, radiation safety): abstracts; 2014; Moskva, RU. Moscow: RUDN; 2014. p. 136. Russian.
25. Senyuk OF, Kovalyov OV, Palamar LA, et al. [Radioprotective effects of melanin-glucan complex with new Fomes fomentarius and indralinu when irradiated mice balb / c dose of 5.95 Gy / 8.5 min]. Nuclear Physics and Power. 2014;15(2):178-88. Ukrainian.
26. Dovgaluk AI, Kalinyak TB, Blum YB. [Evaluation of the photo and the cytotoxic activity of the compounds of heavy metals and

28. 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.
29. Календо Г.С. Ранние реакции клеток на ионизирующие излучения и их роль в защите и сенсibilизации. – М.: Энергоиздат, 1982. – 96с.
- aluminum with the help of the root apical meristem of onion]. Cytology and Genetics. 2001;35(1):3-9. Russian.
27. Fiskesjo G. The Allium test as a standard in environmental monitoring. Hereditas. 1985;102:99-112.
28. Lapach SN, Chubenko AV, Babich PN. [Statistical methods in biomedical research using MS EXCEL]. Kyiv: MORION; 2000. p. 320. Russian.
29. Kalendo GS. [Early cell response to ionizing radiation and their role in protecting and sensitization]. Moscow: Energoizdat; 1982. 96 p. Russian.

Стаття надійшла до редакції 30.07.2015

Received: 30.07.2015