



Химические и природные субстанции для защиты от радиационного поражения

А. В. Литвинчук¹, О. С. Логвинович¹, А. О. Шпаньков², О. В. Дохов¹,
Н. С. Мышковец¹, Е. М. Белоус¹

¹Гомельский государственный медицинский университет, г. Гомель, Беларусь

²Военно-медицинское управление Министерства обороны Республики Беларусь, г. Минск, Беларусь

Резюме

Приоритетным направлением исследований в области радиационной биологии и медицины остается поиск новых эффективных противолучевых средств, так как защита населения от радиационного поражения входит в ряд вопросов государственной безопасности. Первые полученные медикаментозные лекарственные средства из классов аминотиолов и индолиламинов способны снижать первичные радикальные процессы и применяются как профилактические средства. Для блокирования образования вторичных радикалов биологических молекул в организме после облучения были получены природные субстанции полифенолов, которые применяют в клинике для улучшения восстановления пациентов после радиационной терапии. Впоследствии с открытием межклеточных регуляторов — цитокинов — появилась возможность разработать эффективные терапевтические схемы для стимуляции критических систем организма при лечении лучевой болезни. В Российской Федерации создан первый противолучевой препарат на основе рекомбинантного цитокина — интерлейкин-1. Необходимый химически стабильный и простой в применении противолучевой препарат может быть создан на основе ДНК. Лабораторные исследования показали, что введение экзогенной ДНК в организм после облучения повышает его выживаемость путем создания условий для правильной репарации ДНК в клетках критических тканей. Это позволяет рассматривать субстанцию ДНК весьма перспективной для разработки на ее основе нового противолучевого препарата.

Целью исследования данной обзорной статьи является анализ литературных источников, содержащих информацию о применяющихся противолучевых средствах радиационной защиты, а также научных публикаций, где описываются результаты проведенных в последние десятилетия исследований, посвященных поискам новых эффективных противолучевых препаратов. В обзоре использовались преимущественно литературные источники из баз данных PubMed и eLibrary.

Ключевые слова: радиация, противолучевые средства

Вклад авторов. Все авторы внесли вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку обзорной статьи, прочитали и одобрили финальную версию для публикации.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источники финансирования. Отсутствуют.

Для цитирования: Литвинчук АВ, Логвинович ОС, Шпаньков АО, Дохов ОВ, Мышковец НС, Белоус ЕМ. Химические и природные субстанции для защиты от радиационного поражения. Проблемы здоровья и экологии. 2024;21(4):16–25. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2024-21-4-02>

Chemical and natural substances for protection against radiation

Alexandra V. Litvinchuk¹, Olga S. Logvinovich¹, Alexander O. Shpankov²,
Oleg V. Dokhov¹, Nadeja S. Myshkavets¹, Ekaterina M. Belous¹

¹Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

²Military and Medical Directorate of the Ministry of Defence of the Republic of Belarus, Minsk, Belarus

Abstract

Priority research in the field of radiation biology and medicine remains the search for new effective anti-radiation substances, since the protection of the human population from radiation damage is one of the issues of state security. The first medicament preparations obtained from classes of aminothiols and indolylamines can reduce primary radical processes and are used as preventive agents. Natural polyphenol substances, which are used in the clinic to improve

the recovery of patients after radiation therapy, were obtained to block the formation of secondary radicals of biological molecules in the body after irradiation. Subsequently, with the discovery of intercellular regulators – cytokines, it became possible to develop effective therapeutic regimens to stimulate critical systems of the body in the treatment of radiation sickness. In Russia, the first anti-radiation drug based on the recombinant cytokine interleukin-1 was recently developed. The required chemically stable and easy to use anti-radiation agent can be created on the basis of DNA. Laboratory studies have shown that the introduction of exogenous DNA into the body after irradiation increases its survival by creating conditions for proper DNA repair in cells of critical tissues. This allows us to consider the DNA substance very promising for the development on its basis of a new anti-radiation drug.

Keywords: *radiation, anti-radiation agents*

Author contributions. All authors contributed to the research and analysis and the preparation of the article, they read and approved the final version for publication.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. None.

For citation: *Litvinchuk AV, Logvinovich OS, Shpankov AO, Dokhov OV, Myshkavets NS, Belous EM. Chemical and natural substances for protection against radiation. Health and Ecology Issues. 2024;21(4):16–25. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2024-21-4-02>*

Введение

Две крупнейшие аварии на атомных станциях — в 1986 г. на Чернобыльской АЭС в Украинской ССР и в 2011 г. на АЭС в Фукусиме в Японии — привели не только к огромному по масштабу радиационному загрязнению территорий, но и как результат, к трагическому воздействию на жизнь, здоровье, психику населения. Тысячи пострадавших людей выселены из населенных пунктов, пострадавших от радиации, но у них, как и у персонала, который обслуживает эти объекты, существует риск появления лучевых заболеваний. Для ликвидации последствий радиационных аварий создаются международные коллективы, имеющие необходимые знания и опыт [1]. Существует необходимость определения прогностических маркеров по всем жизненно важным органам в случае облучения организма с целью снижения патофизиологических рисков. Такую задачу можно разрешить при наличии открытого доступа к клиническим данным и публикациям. С этой целью создана специальная база данных облученных и получивших терапию пациентов, так называемая SEARCH (System for Evaluation and Archiving of Radiation Accidents based on Case Histories) [1]. Данные базы SEARCH были использованы при выработке тактики лечения рабочих, которые получили высокие дозы облучения (4–6 Гр) при аварии на урановом заводе в Японии [2–4].

Проблема создания медицинских средств противорадиационной защиты долгие годы не теряет своей актуальности, над ее решением работают ученые в разных странах, и в настоящее время уже можно оценить достигнутые успехи. В частности, для оценки эффективности радиопротекторов используют фактор изменения дозы (ФИД). Существует классификация ра-

диопротекторов по эффективности изменять, а именно уменьшать радиационные последствия. Введена величина ФИД — фактор изменения дозы (раньше использовали фактор уменьшения поглощенной дозы (ФУД)), и в зависимости от его значения радиопротекторы бывают: слабые (ФИД < 1,2), умеренные (1,2 < ФИД < 1,5) и сильные (ФИД > 1,5). Наиболее эффективны радиопротекторы в отношении кровяного синдрома (агранулоцитозный или анемический), где найден ФИД от 2,0 до 2,7 при облучении рентгеном или гамма-излучением (объект — мыши). Также установлено, что эффективность радиопротекторов уменьшается с увеличением линейной передачи энергии излучения и нет защиты от облучения альфа-частицами. Для безопасности применения радиопротекторов определяют их токсичность по терапевтическому индексу (ТИ). Рассчитывают ТИ радиопротектора как соотношение токсической дозы препарата (LD_{50} , т. е. доза препарата, вызывающая гибель 50 % животных) к эффективной дозе этого препарата, для которой рассчитан ФИД. Таким образом, ТИ радиопротектора показывает, во сколько раз его эффективная (радиозащитная) доза ниже его токсической дозы. У препаратов, оказывающих при профилактическом введении радиозащитный эффект, показатель ФИД больше единицы. Следует отметить, что ожидаемая величина ФИД при введении существующих радиопротекторов человеку не превышает 1,5 [5].

В Республике Беларусь и Российской Федерации разрешены к применению профилактические радиопротекторы из двух групп соединений — аминотиолов и биогенных аминов [5, 6].

Сложная ситуация возникает при выборе противолучевых терапевтических средств, необходимых для снижения поражения после воз-

действия радиационного источника. Значимость таких лекарственных средств (ЛС) высока в аварийных, непредсказуемых ситуациях.

Целью исследования данной обзорной статьи является анализ литературных источников, содержащих информацию о применяющихся противолучевых средствах радиационной защиты, а также научных публикаций, где описываются результаты проведенных в последние десятилетия исследований, посвященных поискам новых эффективных противолучевых препаратов. В обзоре использовались преимущественно литературные источники из баз данных PubMed и eLibrary.

История вопроса. Химические вещества для защиты от радиации

Впервые на растворах ферментов был показан защитный эффект химических веществ (тиомочевины, формиата, коллоидной серы) от радиационного поражения непрямого действия [7, 8]. Было сделано предположение о конкуренции данных вводимых веществ и биологических молекул за свободные радикалы, образующиеся из воды при действии радиации. Позже появились работы о радиозащитном действии глутатиона, цистеина, триптофана в опытах с бактериофагом [9], а в 1949 г. впервые был открыт эффект радиационной защиты на животных: цистеин защищает крыс от лучевого поражения [10], цианид — мышей [11]. Далее, в 1950-е гг. были установлены на животных моделях противолучевые свойства тиомочевины [12], а позднее показано, что цистамин, гистамин, серотонин, норадреналин — вещества, которые обладают высокой эффективностью против радиационного облучения [13, 14]. К 1965 г. были исследованы на предмет радиопротекторов около трех тысяч веществ и определены наиболее эффективные группы веществ — это аминоктиолы и индолилалкиламины. Острый лучевой синдром включает костномозговую, кишечную и церебральную формы, и летальность определяется величиной поглощенной дозы. Идея создания условий перевода радиочувствительных биохимических процессов в организме в состояние предварительной радиорезистентности для его защиты от радиации долгое время оставалась приоритетной для исследователей в поиске профилактических радиозащитных средств. Для ее воплощения необходимо понимание процессов, лежащих в основе радиорезистентности клеток и тканей.

Механизм радиопротекторного действия аминоктиолов (цистамин) основан на структурной особенности данных соединений к перехвату и инактивации гидроперекисных радикалов, образующихся после облучения в клетке и тем самым

препятствующих первичным лучевым реакциям. Пространственное расположение сульфгидрильной и аминной групп в молекуле аминоктиолов, а именно через два–три углеродных атома, позволяет соединению образовывать химически устойчивую радикальную резонансную форму. Исследователи пришли к заключению, что аминоктиольные соединения способны образовывать радикальные резонансные структуры не только с водными радикалами [15], но и с продуктами радиолиза биомолекул клетки, при этом возможна репарация поврежденной молекулы и инактивация молекулы протектора как в присутствии кислорода, так и при гипоксии [16, 17]. Гипоксическое действие биогенных аминов было использовано в целях уменьшения кислородного фактора, который усиливает лучевое поражение клетки. Представление о том, что радиопротекторное (профилактическое) действие биогенных аминов основано на их способности снижать уровень кислорода в клетках и тканях организма, было впервые предложено Греем в 1952 г. (для объяснения противолучевого действия серотонина) [18]. В пользу гипоксического действия биогенных аминов добавились эксперименты с индолил-алкиламинами, катехоламинами и другими аминами, выполненные зарубежными и советскими учеными [19–22]. К индолилалкиламинной группе радиопротекторов относят разработанный в Советском Союзе «Б-190». Препарат принимается перед облучением, активное вещество — индралин, который создает спазм сосудов и состояние гипоксии в тканях, что сдерживает развитие первичной стадии при облучении, а именно уменьшение кислородных радикалов. При разработке и рекомендации индралина, как профилактического средства радиационного поражения реализована идея по созданию предварительной подготовки биологической системы к облучению. Впрочем, данный препарат не решает проблему пострадиационного восстановления и малоэффективен при введении после облучения [6].

В армии США применяется препарат амифостин, или «Этиол», — органический тиофосфат, который дефосфорилируется в тканях с образованием активного тиолового метаболита, который связывает свободные радикалы в стадии первичной лучевой реакции в клетках и должен быть введен заранее в организм. Недавние исследования показали, что амифостин оказывает позитивное защитное действие на клетки кровеносной системы и кишечника при цитотоксическом действии радиации. Одним из возможных механизмов протекторного действия амифостина являются его анти-апоптотические свойства. Кроме того, исследования показали выраженную

стимуляцию амифостином пролиферации предшественников миелопоэза [23]. Есть данные о радиопротекторных свойствах амифостина на центральную нервную систему [24].

Разработанные на основе аминотиолов ЛС оказывают защитное действие, не связанное с кислородным эффектом. Механизм действия этой группы радиопротекторов был детально исследован в 1960-1970-е гг. и описан как комплексный перевод радиочувствительных биохимических процессов в состояние повышенной устойчивости путем ингибирования репликации ДНК, биосинтеза РНК и белков, разобщения окислительного фосфорилирования. Применение аминотиолов как ингибиторов репликации ДНК было основано, по мнению авторов, на их способности связываться с ферментами репликации посредством кратковременных дисульфидных связей и снижать их каталитическую активность [25]. Такие комплексы затрудняют синтез дезоксирибонуклеотидов и как результат — ингибирование репликации ДНК в клетке. По мнению исследователей, при временном блокировании тиольными протекторами ферментов репликации ДНК создаются условия конкуренции за субстрат (ДНК) между ферментами репликации и репарации, и в этой ситуации ферменты репарации начинают восстановление разрывов ДНК. Клетка успевает провести репарацию части поврежденных участков ДНК, и уже последующее новообразование ДНК происходит на частично восстановленной матрице, что снижает вероятность мутаций в клетке или полной ее гибели из-за невозможности восстановить все повреждения хроматина. Однако авторы гипотезы не исключали участия аминотиолов в защите и на первичной стадии после облучения и не относили аминотиолы к специфическим ингибиторам репликации ДНК. Но выполненные экспериментальные работы доказали активное участие аминотиольных протекторов в ингибировании процессов синтеза нуклеотидов, белков и РНК, ингибирование репликации и сбоя окислительного фосфорилирования в митохондриях путем образования в основном смешанных дисульфидов в белках в предрадикационный период и в момент облучения. Основываясь на этом анализе, предположение, что в суммарном балансе в пострадиационном периоде создаются преимущества для выполнения ДНК репарационных процессов, стало утвердительным. Следует отметить, что в дальнейшем многочисленные исследования, выполненные в этом направлении советскими учеными, доказали, что химическая защита в предрадикационный период возникает не только за счет прямого действия самих радиопротекторов, но и в результате индуцированного ими образования эндогенных тиолов [26]. Най-

денные химические радиопротекторы проявляли эффективность при применении их до момента облучения и имеют профилактическую значимость.

Поиск соединений, способных снизить радиационное поражение организма уже после его облучения, сложен и остается актуальным и в настоящее время, так как имеет место непредсказуемость аварийных и военных ситуаций. Для успешного разрешения этой задачи необходимы детальные исследования последовательности механизмов, лежащих в основе индукции радиационного апоптоза и последующего за ним некроза в клетках, а также механизм эффекта свидетеля, когда пострадиационные повреждения начинаются в клетках организма, не получивших облучения (в клетках-свидетелях). Необходимы исследования регуляторных механизмов клеточных процессов в тканях с разной степенью резистентности к радиации, которые впоследствии опосредуют развитие патологий в облученном организме.

Базовыми остаются первичные окислительные процессы в клетке всех молекул — липидов, белков, нуклеиновых кислот. Макромолекулы липидов, белков и нуклеиновых кислот при прямом и косвенном действии ионизирующего излучения образуют также радикальные формы, которые становятся не только мишенью, но и участниками радиационного поражения всего организма в зависимости от их продолжительности жизни и реакционной активности. Поскольку радиация вызывает ионизацию биологических молекул, а именно возникновение электронных вакансий в атомах молекул, появилась идея введения веществ-доноров электронов. Экспериментально доказано, что ингибиторы свободно-радикальных процессов, такие как производные фенолов и другие, могут оказывать мощную противолучевую активность и в случае образования долгоживущих радикалов биологических молекул [27–29]. Но на организменном уровне эффективность радиационной защиты оказалась ниже, чем на простых системах, а также в результате экспериментов был найден радиосенсибилизирующий эффект при увеличении дозы вещества, хотя положительным было установление возможного применения этого класса соединений и после облучения в течение суток [30–32]. Для этих целей как нельзя лучше подходят полифенольные соединения. В настоящее время коллективом Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН» (г. Ялта, Российская Федерация) получен пищевой концентрат ягод винограда «Эноант».

Исследования показали, что препарат обладает высоким противолучевым свойством благодаря высокому содержанию полифенолов. В нем представлены мономерные полифенолы винограда с высокой антиоксидантной активностью [33]. Препарат «Эноант» имеет свойства снижать количество аберрантных клеток при спонтанном мутагенезе, что дает возможность использовать его для замедления процессов старения, а также обладает лечебным эффектом по отношению к радиационному поражению, что позволяет включать его в схему поддерживающей терапии при лечении онкологических заболеваний с применением радиационной терапии [34].

Цитокины и биологически активные природные субстанции

Открытие первых цитокинов в конце 1980-х гг. привело к широкому их исследованию и для целей радиационной защиты. Цитокины синтезируются лимфоцитами и являются регуляторами пролиферации и дифференцировки гематопоэтических клеток и клеток иммунной системы. К этой группе относят интерлейкины, интерфероны и колониестимулирующие факторы. Интерлейкины продуцируются и действуют на белые клетки крови. Стимулирующие рост колоний факторы — гранулоцитарный и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующие факторы (Г-КСФ, ГМ-КСФ) стимулируют гематопоэз. Прогресс в понимании структуры цитокинов и их сигнальных механизмов доказал, что выработка самих цитокинов находится под сложным контролем, что приводит к ситуациям, в которых панели цитокинов, подходящие для двух основных типов иммунных ответов (клеточный иммунитет против выработки антител), индуцируются по-разному [35]. Поскольку в организме наравне с нервной и эндокринной существует цитокиновая регуляция, правильным будет учитывать это обстоятельство при разработке схем противолучевой терапии. Интерлейкин-1альфа и -1бета были первыми кандидатами для разработки эффективного ЛС при лучевом поражении [36, 37].

В настоящее время для проведения экстренной терапии лучевых поражений в Российской Федерации используют препараты Г-КСФ — «Нейпоген» (филграстим), среди препаратов ГМ-КСФ — «Лейкомакс» (молграмостим) и «Беталейкин» (рекомбинантный интерлейкин-1 бета) [5].

Экспериментально установлено антиапоптотное действие цитокинов на клетки костного мозга и как результат — предотвращение летального исхода в случае гамма-облучения [38]. История применения цитокинов при аварийных радиационных авариях начиналась с 1987 г., ко-

гда в Бразилии (Goiania) произошла авария, в которой облучились восемь человек. Поглощенная доза пострадавших составила от 2,5 Гр до 7 Гр, им была проведена терапия препаратом ГМ-КСФ. В результате такой терапии выжили четыре человека. Пострадавшие в радиационных авариях в Сальвадоре (El Salvador, 1989), Израиле (Soreq, 1989), Белорусской ССР (Несвиж, 1991), Иране (Gilan, 1996), Турции (Istanbul, 1998), Японии (Tokai-Mura, 1999), Тайланде (Samut Prakarn, 2000) и Египте (Meet-Halfa, 2000) получили терапевтическое лечение цитокинами в различных комбинациях в пострадиационный период. Благоприятнейшие исходы, когда все пациенты остались живы, наблюдаются в случаях применения терапии препаратом Г-КСФ и только в случаях, где полученные дозы не превышали летальную дозу в 6 Гр [39].

Рациональность использования цитокинов для восстановления костного мозга как первичной радиочувствительной ткани организма основана на данных об истинных или первичных гемопоэтических клетках, называемых «покоящимися», которые устойчивы к радиационному поражению. Их стимуляция цитокинами позволит восполнить все клетки, необходимые организму. Пролиферация клеточных линий костного мозга также регулируется цитокинами, и поэтому введение извне цитокинов в пострадиационном восстановлении организма необходимо для его поддержания. Предварительные данные были получены на мышах и приматах [40, 41]. Хотя приготовленные по генно-инженерной биотехнологии рекомбинантные препараты цитокинов показали свое преимущество над индукторами цитокинов, необходима экспериментальная проверка различных схем цитокинов экстренного действия и цитокинов длительного курсового применения в схемах лечения лучевых поражений. Таким образом, стимуляция истинных стволовых клеток, как и всех гемопоэтических предшественников, цитокинами в облученном организме имеет смысл при условии наличия успешного синтеза нуклеиновых кислот как необходимого материала для деления и пролиферации клеток.

Построенный экспериментальный реактор ВВР-М на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»» (г. Гатчина, Российская Федерация) имел спроектированные биологические каналы, что дало возможность провести масштабные радиобиологические исследования отделению молекулярной и радиационной биофизики (ОМРБ) под руководством доктора медицинских наук Свердлова А.Г. Выполненные

исследования по изучению нейтронного облучения на организм позволили оценить возможность применения химической защиты. Проведен анализ радиозащитных свойств многих химических соединений. Выбраны наиболее эффективные химические соединения и их композиции для профилактической защиты от нейтронного радиационного поражения, но в целом защита была невысока (ФИД = 1,1–1,2) [40]. Впервые в 60-е гг. прошлого столетия была изучена возможность применения продуктов температурного и ферментативного гидролиза ДНК как противолучевого средства при облучении быстрыми нейтронами с энергиями от 20 КэВ до 20 МэВ. Исследования, выполненные на нейтронном реакторе Института физики АН УССР в Киеве на предмет изучения защитных свойств гетерологичной и гомологичной ДНК субстанций, доказали ее защитные свойства, и выживаемость животных, облученных при летальной дозе, увеличилась на 30 % [43]. Вопрос о профилактическом и лечебном использовании ДНК остался открытым. Но в случае нейтронного поражения, учитывая выраженное повреждающее действие нейтронов на хромосомы, нуклеиновые кислоты и их обмен, представляется целесообразным изучение возможностей применения молекул ДНК для защиты клеточного ядерного материала по конкурентному типу или при репарации хроматина в качестве затравки, исходного материала.

В 2007 г. в пионерской работе А.С. Лихачевой и соавторов был проведен анализ радиопротекторного действия фрагментированной экзогенной ДНК на облученных летальной дозой гамма-излучения мышах [44]. ДНК получена и приготовлена из плаценты человека особым способом. По результатам данной работы можно утверждать, что фрагменты ДНК оказывают защитное действие при введении после облучения в течение первых 5-15 минут, и выживаемость мышей составила 80 %. Авторы нашли введенные фрагменты в клетках костного мозга (ККМ), а также в селезенках экспериментальных смертельно облученных животных, где формируются колонии, содержащие лимфоциты, представляющие собой потомков выживших стволовых клеток крови (СКК). Приведены экспериментальные доказательства, что проникающая в гемопоэтические прогениторные клетки экзо-ДНК сохраняет их от радиационной гибели и тем самым стимулирует гемо- и лейкопоз. Полученные результаты позволили предположить, что ККМ и СКК могут являться одной из основных мишеней воздействия чужеродных фрагментов при введении экзогенной ДНК в организм экспериментального животного. Предполагаемый механизм действия ДНК-субстанции направлен на спасение стволовых клеток от ра-

диационного апоптоза. Результаты предполагают участие субстанции в определенных событиях в ККМ (СКК) на разных стадиях их развития. Позже экспериментально подтверждено, что фрагменты экзогенной ДНК после инъекции мышам уже через 5 минут обнаружены в костномозговом пространстве и проникли в клетки костного мозга. Также установили, что экстракорпорально культивируемые ККМ способны захватывать эти же фрагменты ДНК, которые добавляли в культуральную среду, и они располагаются во внутренних компартментах клеток, сохраняя исходный размер. Одновременно в таких клетках может находиться 1800 т. п. н. экзогенного материала нуклеиновых кислот [45].

Другой группой исследователей был проведен анализ фрагментированной ДНК, полученной из печени свиньи (ДНК-1) и эритроцитов цыпленка (ДНК-2) без использования токсических веществ на предмет защиты организма от гамма-радиации и подробное исследование восстановления костного мозга. Введение экзогенной ДНК (фрагменты от 200-2000 н. п.) выполнили как подкожные инъекции в 10–30-минутный период после облучения крысам, облученным при дозе 6,5 Гр (цезий-137 использовался как гамма-излучатель). На 3-и, 10-е и 30-е сутки был проведен анализ лейко-эритробластическое соотношения костного мозга (Л:Э) как отношение суммы процентного содержания всех элементов гранулоцитарного ростка к сумме процентного содержания всех элементов эритроидного ростка костного мозга. Полученные данные указывают на защитный эффект экзо-ДНК уже на 3-и сутки, причем препарат ДНК-1 был более эффективен, чем ДНК-2, и Л:Э соотношения были 1,5 и 0,8 соответственно при сравнении с величиной Л:Э — 3,2 у необлученных и 0,6 у облученных крыс. На 10-е сутки, когда начинается стадия восстановления ранних предшественников ККМ, у облученных и облученных, но получивших экзо-ДНК двух типов, не обнаружено значительных различий Л:Э величин, но индекс созревания нейтрофилов указывает на преобладание зрелых форм в группах животных с экзогенной ДНК. На 30-е сутки у крыс с инъекцией экзо-ДНК наблюдалось статистически достоверное повышение клеток-предшественников белого ростка и нормализации Л:Э до величины в группе с ДНК-1 — 2,5, а в группе с ДНК-2 — 2,1. В то же время Л:Э для облученных крыс величина осталась 1,1–1,2, как и на 10-е сутки. Сделан вывод о том, что экзогенная ДНК оказывает защитное и стимулирующее действие на гранулоцитарные предшественники. Интересным было то, что выполненный анализ индекса созревания эритрокариоцитов не обнаружил различий у облученных животных и об-

лученных, но получивших инъекцию экзо-ДНК. Полученные результаты позволили сделать вывод о защитном эффекте фрагментированной экзо-ДНК субстанций на ядерные клетки гранулоцитарного ростка путем улучшения репарации хроматина и как результат — восстановление гомеостаза костного мозга. Радиационное поражение предшественников эритроидного ростка оценили по образованию микроядер в полихроматофильных эритроцитах (ПХЭ) костного мозга крыс, облученных при дозе 6,5 Гр и облученных при этой же дозе и получивших экзогенную ДНК (ДНК-1) на 10-е и 30-е сутки. Процент ПХЭ с микроядрами от всех ПХЭ был увеличен на 10-е и 30-е сутки в 2,2 раза у группы облученных крыс в сравнении с контрольными необлученными животными. Снижение содержания ПХЭ с микроядрами было отмечено у группы, получившей препарат уже на 10-е сутки, а на 30-е сутки процент таких клеток был как в контрольной группе (0,5 %). Данные подтверждают положительный эффект экзогенной ДНК на клетки-предшественники эритроидного ростка [46].

Отдаленные последствия радиации, как и радиорезистентные ткани, весьма важные вопросы при оценке общего действия радиации на организм и разработке защитных мер и средств. Ранее считали, что сердце и сосудистая система мало подвержена негативному действию радиации. Но была найдена индукция гена *bx* в кардиомиоцитах сердца крыс после 6 месяцев облучения. Используя ПЦР-анализ генов (*bx*, *bcl2*) *bcl2*-семейства, которые ответственны за апоптотическую гибель клеток, было установлено этими же авторами, что экзогенная ДНК обладает защитным антиапоптотическим свойством для кардиомиоцитов, а именно активации проапоптотического гена *bx* не наблюдалось у животных, которым после облучения была сделана инъекция препарата ДНК [47]. При облучении организма происходит полная гибель лимфоцитов, и для защиты иммунной системы облученного организма необходима защита и стимуляция ККМ, так как именно там находятся предшественники лимфоцитов, нейтрофилов, макрофагов. Для ускоренной пролиферации ККМ необходимы нуклеотиды, которые синтезируются в этих клетках, но при лучевом синдроме этот процесс затруднен по причине разрушения регуляторных механизмов и зависит от притока извне. Известно, что нуклеиновые кислоты, как ценный материал, захватываются из внеклеточного пространства клетками с активной пролиферацией. Введение фрагментированных нуклеиновых кислот восполняет недостаток нуклеотидов и создает возможность клетке, используя их, сделать деление и пролиферацию, а также улучшает необходимую

репарацию разрывов, поставляя матрицы ДНК. Восстановление костного мозга при лучевом синдроме важно, так как там находятся стволовые клетки, которые превращаются в любые клетки организма и способны давать начало миллиардам клеток. Но применение только регуляторных молекул, которые будут стимулировать клетки к росту и пролиферации, не имеет целесообразности при массовых радиационных повреждениях организма. Представляется разумным применять цитокины при восстановлении облученного организма с введением препаратов фрагментированной ДНК.

Важным остается понимание тех базовых основ радиационного поражения от клетки до организма в целом, которые диктуют необходимость мер по восстановлению клеток немедленно после облучения, т. е. успешной ранней репарации ДНК в них в пострadiационном периоде, возможность которой создается профилактическими препаратами. Радиопротекторы химической природы, разработанные в 1950-80-х гг., остаются в силе и в настоящее время, что является выдающимся результатом научного творчества и энтузиазма ученых тех лет.

Заключение

В настоящее время стоит задача дополнения к уже апробированным профилактическим радиопротекторам новых противолучевых средств в пострadiационный период. Наиболее востребован препарат на основе ДНК, так называемая «экзогенная ДНК», как необходимый материал для успешной репарации хроматина поврежденной клетки, причем он дает возможность провести репарацию, используя нативную матрицу по пути гомологичной рекомбинации, исключая мутации. Идеальный радиопротектор должен соответствовать строгим требованиям: проявлять высокую радиозащитную эффективность (ФИД = 2–3), действовать при остром и хроническом облучении; иметь противолучевое действие против различных типов ионизирующей радиации; простой способ введения — перорально, подкожно или внутримышечно (самостоятельное применение персонной); быстро распределяться по тканям и органам и быть активным сразу после введения; быть нетоксичным, недорогим, химически стабильным. С учетом перечисленных выше требований препарат на основе ДНК может быть рассмотрен как противолучевое терапевтическое средство уже в ближайшем будущем. Очень важно, что препарат экзогенной ДНК эффективен в незапланированных случаях радиационного поражения, т. е. после факта облучения его вводят простым способом — подкожно, он быстро распределяется по организму, не

имеет побочных эффектов, стабилен в обычных условиях.

В области радиобиологических исследований необходима апробация новых перспективных цитокинов экстренного противолучевого действия, в первую очередь Г-КСФ, который показал свою эффективность для человека в аварийных случаях в 1998 г. (Турция) и в 2000 г. (Египет). Для купирования первичных и вторичных ради-

ационно-индуцированных радикалов в клетках облученного организма будет эффективным применение природного экстракта винограда «Эноант». Нуждается в экспериментальной проверке совместимость в схеме лечения лучевых поражений профилактических радиопротекторов, цитокинов экстренного действия и цитокинов длительного курсового применения совместно с введением препарата экзогенной ДНК.

Список литературы / References

- Fliedner TM, Dorr HD, Meineke V. Multi-organ involvement as a pathogenetic principle of the radiation syndromes: a study involving 110 case histories documented in SEARCH and classified as the bases of hematopoietic indicators of effect. *Br J Radiol Suppl.* 2005;27:1-8. DOI: <https://doi.org/10.1259/bjr/77700378>
- Friesecke I, Beyrer K, Wedel R, Reimers K, Fliedner TM. SEARCH: a system for evaluation and archiving of radiation accidents based on case histories. *Radiat Environ Biophys.* 2000;39:213-217. DOI: <https://doi.org/10.1007/s004110000056>
- Meineke V, Fliedner TM. Radiation-induced multi-organ involvement and failure: challenges for radiation accident medical management and future research. *Br J Radiol Suppl.* 2005;27:196-200. DOI: <https://doi.org/10.1259/bjr/25654769>
- Akashi M, Hiramata T, Tanosaki S, Kuroiwa N, Nakagawa K, Tsuji H, et al. Initial symptoms of acute radiation syndrome in the JCO critically accident in Tokai-Mura. *J Radiat Res.* 2001;42, Issue Suppl:S157-S166. DOI: <https://doi.org/10.1269/jrr.42.s157>
- Гребенюк А.Н., Легеза В.И., Назаров В.Б., Тимошевский А.А. Медицинские средства профилактики и терапии радиационных поражений. Учеб. пособие для студентов мед. и фармацевтических вузов. Санкт-Петербург: ООО «Издательство ФОЛИАНТ»; 2011. 92 с.
Grebenyuk AN, Legeza VI, Nazarov VB, Timoshevsky AA. Medical means of prevention and therapy of radiation injuries. Textbook for students of medical and pharmaceutical universities. St. Petersburg: ООО "Izdatelstvo FOLIANT"; 2011. 92 p. (In Russ.).
- Ильин Л.А., Рудный Н.М., Суворов Н.Н., Чернов Г.А., Антипов В.В., Васин М.В. [и др.]. Индралин – радиопротектор экстренного действия. Противолучевые свойства. Фармакология, механизм действия, клиника. Москва; 1994.
Ilyin LA, Rudny NM, Suvorov NN, Chernov GA, Antipov VV, Vasin MV, et al. Indralin is an emergency radioprotector. Anti-radiation properties. Pharmacology, mechanism of action, clinic. Moscow; 1994. (In Russ.).
- Dale WM. Effect of X-rays on enzymes. *Biochem J.* 1940;34:1367-1373. DOI: <https://doi.org/10.1042/bj0341367>
- Dale W.M. Effects of X-rays on the conjugated protein d-amino acid oxidase. *Biochem J.* 1942;36(1-2):80-85. DOI: <https://doi.org/10.1042/bj0360080>
- Lataret R, Epeati E. Influence protectrice de certaines substances contre l'inactivation d'un bacteriophage par les rayons X. [Protective influence of certain substances against inactivation of a bacteriophage by X-rays]. *C R Seances Soc Biol Fil.* 1948;142(7-8):497-499. (in French).
- Patt H, Tyree E, Straube R, Smith D. Cysteine Protection against X Irradiation. *Science.* 1949;110:213-214. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.110.2852.213>
- Herve A, Bacq ZM. Sulfocyanure, tocopherol et rayons X. *Compt rend Soc. Biol.* 1949;143:1158-1159.
- Limperos G, Mosher WA. Protection of mice against X-radiation by thiourea. *Science.* 1950;112:86-88.
- Bacq ZM, Herve A, Lecompte J, Fisher P, Blavier J. Protection contre le rayonnement X par la beta-mercaptoéthylamine. *Arch Int Physiol.* 1951;59(4):442-447. DOI: <https://doi.org/10.3109/13813455109150836>
- Bacq Z, Herve A. Protection chimique contre le rayonnement X. *Bull Acad Roy Med Belg Vith series.* 1952;17:13-15.
- Alexander P, Charlesby A. Physico-chemical methods of protection against ionizing radiations. *Radiobiological Symposium Liege, Butterworth, London.* 1954;49-59.
- Smaller B, Avery C. Radiation protection and free radicals. *Nature.* 1959;183:539-542.
- Эйдус Л.Х. Физико-химические основы радиобиологических процессов и защиты от излучений. Москва: Атомиздат; 1972.
Eidus LH. Physico-chemical foundations of radiobiological processes and radiation protection. Moscow: Atomizdat; 1972. (In Russ.).
- Gray LH, Tew JT, Jensen H. Protective effect of serotonin and of para-aminopropiophenone against lethal doses of X-irradiation. *Proc Soc Exptl Bio Med.* 1952;80:604-610.
- Van der Meer C, van Bekkum DW. The mechanism of radiation protection by histamine and other biological amines. *Int Radiat Biol.* 1959;1:5-23. DOI: <https://doi.org/10.1080/09553005914550041>
- Van der Meer C, van Bekkum DW. A study on the mechanism of radiation protection by 5-hydroxytryptamine and tryptamine. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med* 1961;4:105-110. DOI: <https://doi.org/10.1080/095530061145500991>
- Bacq Z, Goutier R. Mechanisms of action of sulfur-containing radioprotectors. *Brookhaven Sympos. Biol.* 1968;20.
- Жеребченко П.Г. Противолучевые свойства индолалкиламинов. Москва: Атомиздат; 1971.
Zherebchenko PG. Anti-radiation properties of indolylalkylamines. Moscow: Atomizdat; 1971. (In Russ.).
- Liu W, Chen Q, Wu S, Xia X, Wu A, Cui F, et al. Radioprotector WR-2721 and mitigating peptidoglycan synergistically promote mouse survival through the amelioration of intestinal and bone marrow damage. *J Rad Res.* 2015;56:278-286. DOI: <https://doi.org/10.1093/jrr/rru100>
- Nieder C, Andratschke NH, Wiedenmann N, Molls M. Prevention of radiation-induced central nervous system toxicity: A role for amifostine? *Anticancer Research.* 2004;24:3803-3809.
- Филиппович И.В., Романцев Е.Ф. Вклад процессов репарации ДНК в механизм действия радиопротекторов. *Информационный бюллетень по радиобиологии.* 1978;21.
Filipovich IV, Romantsev EF. Contribution of DNA repair processes to the mechanism of action of radioprotectors. *Inform Bul Radiobiol.* 1978;21. (In Russ.).
- Граевский Э.Я. Сульфгидрильные группы и радиочувствительность. М.: Атомиздат; 1969.
Graevskij EJ. Sulfhydryl groups and radiosensitivity. Moscow: Atomizdat; 1969. (In Russ.).
- Андрянов В.Т., Ахрем А.А., Писаревский А.Н., Спитковский Д.М. Радиационная биофизика ДНП хроматина. Москва: Атомиздат; 1976.
Andrianov VT, Akhrem AA, Pisarevsky AN, Spitkovsky DM. Radiation biophysics of DNP chromatin. Moscow: Atomizdat; 1976. (In Russ.).

28. Каюшин Л.П., Коломийцева И.К., Львов К.М. Изучение свободных радикалов в переживающих тканях животных. *Доклады АН СССР*. 1960;134(5):1229-1231.
- Kayushin LP, Kolomyitseva IK, Lvov KM. Study of free radicals in surviving animal tissues. *Reports of the USSR Academy of Sciences*. 1960;134(5):1229-1231. (In Russ.).
29. Эмануэль Н.М. Роль свободных радикалов в радиобиологических процессах и некоторые новые возможности в разработке средств против лучевого поражения. В кн.: Первичные механизмы биологического действия ионизирующих излучений. Москва: АН СССР; 1963.
- Emanuel NM. The role of free radicals in radiobiological processes and some new opportunities in the development of drugs against radiation injury. In the book: Primary mechanisms of the biological action of ionizing radiation. Moscow: USSR Academy of Sciences; 1963. (In Russ.).
30. Бурлакова Е.Б., Граевская Б.М., Иваненко Т.Ф., Шишкина Л.Н. Связь между изменениями уровней эндогенных тиолов и антиокислительной активности липидов и радиочувствительностью животных разных видов. *Радиобиология*. 1978;18(5):655-660.
- Burlakova EB, Graevskaya BM, Ivanenko TF, Shishkina LN. Link between changes in the levels of endogenous thiols and antioxidant activity of lipids and radiosensitivity of animals of different species. *Radiobiology*. 1978;18(5):655-660. (In Russ.).
31. Городецкий А.А., Барабой В.А. Противолучевые свойства галлатов. Киев; 1963.
- Gorodetsky AA, Baraboy VA. Anti-radiation properties of gallates. Kyiv; 1963. (In Russ.).
32. Жеребченко П.Г. Пределы химической защиты организмов. В кн.: Пределы модифицируемости лучевого поражения. Москва: Атомиздат; 1978.
- Zherebchenko PG. Limits of chemical protection of organisms. In the book: Limits of modifiability of radiation injury. Moscow: Atomizdat; 1978. (In Russ.).
33. Огай Ю.А., Слостя Е.А. Антоцианы в составе полифенолов винограда пищевой концентрации «Эноант». Магарац. *Виноградарство и виноделие*. 2003;(1):25-26.
- Ogai YuA, Slastyia EA. Anthocyanins in the composition of grape polyphenols in the food concentrate "Enoant". *Magarach. Vinogradarstvo i vinodeliye*. 2003;(1):25-26. (In Russ.).
34. Solyanik GI, Mizin VI, Pyaskovskaya O. Banakchevich N, Ogay YA. Correction of the cancer therapy-induced anemia by the grape polyphenol concentrate enoant. In: NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology. Advanced bioactive compounds countering the effects of radiological, chemical and biological agents. Edited by Pierce GN, Mizin VI, Omelchenko A. Springer. 2014. P. 43-54.
- DOI: https://doi.org/10.1007/978-94-007-6513-9_4
35. Paul WE, Seder RA. Lymphocyte responses and cytokines. *Cell*. 1994 Jan 28;76(2):241-251.
- DOI: [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90332-8](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90332-8)
36. Рогачева С.А., Симбирцев А.С. Использование рекомбинантного человеческого интерлейкин-1альфа и -1бета как средства ранней терапии острой лучевой болезни в эксперименте. *Радиационная биология. Радиозэкология*. 1997;37(1):61-67.
- Rogacheva SA, Simbirtsev AS. The use of recombinant human interleukin-1alpha and -1beta as a means of early therapy for acute radiation sickness in an experiment. *Radiation biology. Radioecology*. 1997;37(1):61-67. (In Russ.).
37. Рождественский Л.М. Интерлейкин-1 – центральный провоспалительный цитокин плейотропного действия в аспекте лечения лучевых поражений в эксперименте и клинике. *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2001;46(4):5-11.
- Rozhdestvensky LM. Interleukin-1 is a central pro-inflammatory cytokine with pleiotropic action in the treatment of radiation injuries in experiments and clinics. *Medical Radiology and Radiation Safety*. 2001;46(4):5-11. (In Russ.).
38. Hérodin F, Bourin P, Mayol JF, Lataillade JJ, Drouet M. Short-term injection of antiapoptotic cytokine combinations soon after lethal gamma -irradiation promotes survival. *Blood*. 2003 Apr 1;101(7):2609-2616.
- DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2002-06-1634>
39. Hérodin F, Drouet M. Cytokine-based treatment of accidentally irradiated victims and new approaches. *Exp Hematol*. 2005;Oct;33(10):1071-1080.
- DOI: <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2005.04.007>
40. Shen H, Yun YY, Epperly MW, Greenberger JS. Decreased total body irradiation (TBI)-induced apoptosis in murine hematopoietic side population cells compared to non-side population cells. *Blood*. 2004;104(11):4241.
- DOI: <https://doi.org/10.1182/blood.V104.11.4241.4241>
41. Neelis KJ, Dubbelman YD, Qingliang L, Thomas GR, Eaton DL, Wagemaker G. Simultaneous administration of TPO and G-CSF after cyto-reductive treatment of rhesus monkeys prevents thrombocytopenia, accelerates platelet and red cell reconstitution, alleviates neutropenia, and promotes the recovery of immature bone marrow cells. *Exp Hematol*. 1997; Sep;25(10):1084-1093.
42. Свердлов А.Г., Мозжухин А.С., Павлова Л.М. [и др.]. К вопросу об ОБЭ нейтронов деления. *Радиобиология*. 1972;(12):279-284.
- Sverdlov AG, Mozzhukhin AS, Pavlova LM, et al. On the issue of RBE of fission neutrons. *Radiobiology*. 1972;(12):279-284. (In Russ.).
43. Чеботарев Е.Е., Рябова Э.З., Индык В.М. Защитное и лечебное действие экзогенной ДНК при облучении быстрыми нейтронами. Киев: Наукова думка; 1974. 141с.
- Chebotarev EE, Ryabova EZ, Indyk VM. Protective and therapeutic effect of exogenous DNA upon irradiation with fast neutrons. Kyiv: Navukova Dumka; 1974. 141c. (In Russ.).
44. Likhacheva A.S., Nikolin V.P., Popova N.A et al. Exogenous DNA can be captured by stem cells and be involved in their rescue from death after lethal-dose γ -radiation. *Gene Ther Mol Biol*. 2007;11:305-314.
45. Dolgova EV, Nikolin VP, Popov NA, Proskurina KE, Orshenko EA, Alyamkina YR, et al. Internalization of exogenous DNA into internal compartments of murine bone marrow cells. *Russ J Genet Appl Res*. 2012;2:440-452.
- DOI: <https://doi.org/10.1134/S2079059712060056>
46. Зайцева О.А., Литвинчук А.В. Радиозащитный эффект экзогенной ДНК на клетки – предшественники гранулоцитов. В: *Фундаментальные науки – медицине: материалы международной научной конференции*, 2013, 17 мая, Минск. Минск: Белорусская наука; 2013;1:283-287. [дата обращения 2023 июнь 18]. Режим доступа: <https://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=231210>
- Zaitseva OA, Litvinchuk AV. Radioprotective effect of exogenous DNA on granulocyte precursor cells. In: Basic sciences – medicine: materials of the international scientific conference; 2013, May 17; Minsk. Minsk: Belorusskaya nauka; 2013;1:283-287. [date of access 2023 June 18]. Available from: <https://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=231210>
47. Naumov AD, Timokhina NI, Litvinchuk AV, Vereshchako GG, Khodosovskaya AM, Sushko SN, Kadukova EM. Radioprotective properties of selenomethionine with methionine, extracts from *Basidium Fungi* and exogenous DNA. In: NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology. Advanced bioactive compounds countering the effects of radiological, chemical and biological agents. Edited by Pierce GN, Mizin VI, Omelchenko A. Springer. 2014. P.55-73.
- DOI: https://doi.org/10.1007/978-94-007-6513-9_7

Информация об авторах / Information about the authors

Литвинчук Александра Васильевна, к.х.н., доцент кафедры биологической химии, УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь
ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-9586-0034>
e-mail: litvinalex@gmail.com

Логвинович Ольга Степановна, к.б.н., заведующий кафедрой биологической химии, УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3990-7780>
e-mail: Ologvinovich@rambler.ru

Шпаньков Александр Олегович, подполковник медицинской службы, заместитель начальника военно-медицинского управления Министерства обороны Республики Беларусь, Минск, Беларусь
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7740-1951>
e-mail: shpankov@gsmu.by

Дохов Олег Владимирович, подполковник медицинской службы, заместитель начальника военной кафедры, УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2421-0163>
e-mail: dohov@list.ru

Мышковаец Надежда Сергеевна, старший преподаватель кафедры биологической химии, УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2713-9438>
e-mail: jasjan@mail.ru

Белоус Екатерина Михайловна, преподаватель кафедры биологической химии, УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Беларусь
ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-1005-1006>
e-mail: katy.belous@mail.ru

Alexandra V. Litvinchuk, Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor at the Department of Biological Chemistry, Gomel State Medical University, Gomel, Belarus
ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-9586-0034>
e-mail: litvinalex@gmail.com

Olga S. Logvinovich, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Biological Chemistry, Gomel State Medical University, Gomel, Belarus
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3990-7780>
e-mail: Ologvinovich@rambler.ru

Alexander O. Shpankov, Lieutenant Colonel of the Medical Service, Deputy Head of the Military and Medical Directorate of the Ministry of Defence of the Republic of Belarus, Minsk, Belarus
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7740-1951>
e-mail: shpankov@gsmu.by

Oleg V. Dokhov, Lieutenant Colonel of the Medical Service, Deputy Head of the Military Department, Gomel State Medical University, Gomel, Belarus
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2421-0163>
e-mail: dohov@list.ru

Nadeja S. Myshkavets, Lecturer at the Department of Biological Chemistry, Gomel State Medical University, Gomel, Belarus
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2713-9438>
e-mail: jasjan@mail.ru

Ekaterina M. Belous, Lecturer at the Department of Biological Chemistry, Gomel State Medical University, Gomel, Belarus
ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-1005-1006>
e-mail: katy.belous@mail.ru

Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

Логвинович Ольга Степановна
e-mail: Ologvinovich@rambler.ru

Olga S. Logvinovich
e-mail: Ologvinovich@rambler.ru

Поступила в редакцию / Received 24.06.2024

Поступила после рецензирования / Accepted 22.07.2024

Принята к публикации / Revised 20.11.2024