

ОЦЕНКА ПРОТИВОРАДИАЦИОННОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕБНОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Т. Р. Гайнутдинов^{1,2,3}✉, С. А. Рыжкин^{2,3,4,6}, Р. Ф. Шавалиев^{4,5}, К. Н. Вагин^{1,2}, Я. М. Курбангалеев¹, Ф. Х. Калимуллин¹, Э. М. Плотникова¹, А. М. Идрисов¹, С. Е. Охрименко³, Е. Н. Майорова¹

¹ Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Россия

² Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

³ Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

⁴ Казанский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Казань, Россия

⁵ Республиканская клиническая больница Министерства здравоохранения Республики Татарстан, Казань, Россия

⁶ Академия наук Республики Татарстан, Казань, Россия

Актуальность проведенных исследований заключается в том, что снижение токсичности микроорганизмов в процессе их радиоинактивации сопровождается синтезом радиопротекторных субстанций и проявлением радиозащитного действия при введении этих микробных препаратов в организм облученных животных. Целью исследования было изучить радиозащитную эффективность облученных вариантов золотистого стафилококка. В работе установлено, что культура *Staphylococcus aureus*, подвергнутая однократному гамма-облучению в диапазоне доз от 30 до 40 кГр, обеспечивает защиту от 55 до 66% летально облученных животных. Многократное облучение тест-микроба постепенно возрастающими дозами гамма-лучей индуцировало еще большее возрастание радиорезистентности, обусловленное синтезом эндогенных радиопротекторов, в частности антиоксидантного фермента пероксидазы и цитокина IL1 β , обеспечивающих перехват радиоиндуцированных токсических радикалов, предотвращая тем самым пострadiационную панцитопению в костном мозге. В опытах на белых мышах, облученных гамма-лучами в абсолютно летальных дозах (7,9 Гр, LD_{100/30}), показано, что однократное подкожное введение радиорезистентного варианта *St. aureus* штамм 209R₇₀ в дозе 2×10^8 микробных клеток на особь через 3 суток после облучения обеспечивало 77,7% выживаемость при 100% гибели нелеченых животных. На основании полученных результатов сделано предположение, что включение облученных препаратов микробного происхождения позволит повысить эффективность комплексных радиозащитных средств.

Ключевые слова: золотистый стафилококк, гамма-лучи, радиоинактивация, радиомодификация, лабораторные животные, противорадиационная эффективность
Финансирование: работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИИВ» для выполнения научно-исследовательской работы, государственная регистрация № 01200202604.

Благодарности: работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).

Вклад авторов: Т. Р. Гайнутдинов — литературный обзор по теме статьи, выполнена экспериментальная часть работы, обработан полученный материал, отредактирован текст, подготовлена рукопись; С. А. Рыжкин — научное руководство; Р. Ф. Шавалиев — консультативная помощь в выполнении экспериментальной части работы, редактирование текста; К. Н. Вагин, Я. М. Курбангалеев, С. Е. Охрименко — консультативная помощь по выполнению исследований; Ф. Х. Калимуллин — содействие и выполнение экспериментальной части работы; Э. М. Плотникова, А. М. Идрисов, Е. Н. Майорова — выполнение экспериментов, проведение статистической обработки данных.

Соблюдение этических стандартов: все процедуры с модельными животными были проведены в соответствии с Правилами лабораторной практики и директивой Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/EC (2010 г.) о защите животных, используемых для научных целей.

✉ Для корреспонденции: Тимур Рафкатович Гайнутдинов
ул Научный городок, д. 2, г. Казань, 420075, Россия, gtr_timur@mail.ru

Статья получена: 10.05.2024 **Статья принята к печати:** 08.06.2024 **Опубликована онлайн:** 26.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.023

EVALUATION OF ANTI-RADIATION EFFICACY OF THE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*-DERIVED THERAPEUTIC AGENT

Gaynutdinov TR^{1,2,3}✉, Ryzhkin SA^{2,3,4,6}, Shavaliyev RF^{4,5}, Vagin KN^{1,2}, Kurbangaleev YaM¹, Kalimullin FH¹, Plotnikova EM¹, Idrisov AM¹, Ohrimenko SE³, Mayorova EN¹

¹ Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety, Kazan, Russia

² Kazan Federal University, Kazan, Russia

³ Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

⁴ Kazan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kazan, Russia

⁵ Republican Clinical Hospital of the Ministry of Health of the Republic of Tatarstan, Kazan, Russia

⁶ Academy of Sciences of the Republic of Tatarstan, Kazan, Russia

The study is relevant due to the fact that the decrease in microbial toxicity observed during the radio-inactivation of microorganisms is accompanied by synthesis of radioprotective substances and exertion of the radioprotective effects associated with administration of such microbial agents to exposed animals. The study was aimed to assess radioprotective efficacy of the exposed *Staphylococcus aureus* variants. The study showed that the *Staphylococcus aureus* culture treated with a single dose of gamma radiation (30–40 kGy) ensured protection of 55–66% of the lethally irradiated animals. Multiple exposures of the test microorganism to the gradually increasing doses of gamma radiation induced an even larger increase in radioresistance resulting from the synthesis of endogenic radioprotectors, particularly peroxidase, the antioxidant enzyme, and IL1 β cytokine, ensuring interception of the radiation-induced toxic radicals and thereby preventing post-exposure pancytopenia in the bone marrow. The experiments involving white mice exposed to the absolutely lethal gamma radiation doses (7.9 Gy, LD_{100/30}) showed that a single subcutaneous administration of the *St. aureus* radioresistant variant (strain 209R₇₀) in a dose of 2×10^8 bacterial cells per animal 3 days after the exposure ensured the 77.7% survival rate, while 100% of untreated animals died. Based on the findings it was concluded that inclusion of the exposed agents of microbial origin would make it possible to increase the efficacy of the combination radioprotectors.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, gamma rays, radio inactivation, radio modification, laboratory animals, anti-radiation effectiveness

Funding: the study was conducted the expense of the subsidy granted to the Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety for research work, state registration No. 01200202604.

Acknowledgements: the study was performed within the framework of the Strategic Academic Leadership Program of the Kazan Federal University (PRIORITY-2030).

Author contribution: Gaynutdinov TR — literature review on the issue, conducting the experimental part of the study, processing of the data acquired, text editing, manuscript preparation; Ryzhkin SA — academic advising; Shavaliyev RF — advisory assistance during the experimental part of the study, text editing; Vagin KN, Kurbangaleev YaM, Ohrimenko SE — advisory assistance during the study; Kalimullin FH — assistance and conducting the experimental part of the study; Plotnikova EM, Idrisov AM, Mayorova EN — conducting the experiments, statistical data processing.

Compliance with ethical standards: all the procedures involving model animals were conducted in accordance with the Good Laboratory Practice and the Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council (2010) on the protection of animals used for scientific purposes.

✉ Correspondence should be addressed: Timur R. Gaynutdinov
Nauchnyj Gorodok, 2, Kazan, 420075, Russia; gtr_timur@mail.ru

Received: 10.05.2024 **Accepted:** 08.06.2024 **Published online:** 26.06.2024

DOI: 10.47183/mes.2024.023

Принципиальные основы современной радиационной микробиологии нашли широкое применение в медицине и ветеринарии (стерилизация веществ микробного происхождения, антибиотиков, крови, сывороток, вакцин, питательных сред, оценка биологической безопасности облученных кормов и пищевых продуктов) [1, 2]. Радиоинактивированные бактерии и вирусы, а также антигены (радиовакцины, радиоантигены) успешно используют в области инфекционной патологии в качестве профилактических и диагностических средств. Установленные антимикробные эффекты ионизирующих излучений позволили постулировать важнейшие для радиомикробиологии и радиовирусологии положения, которые составляют основу современной радиационной микробиологии и радиационной генетики микроорганизмов, и используются при получении и конструировании радиовакцин и радиоантигенов [3–6]. При этом весьма важную роль играют сведения о том, что радиоинаktivация микроорганизмов сопровождается резким снижением токсичности микробов и изменением их метаболизма с индукцией синтеза субстанций, обладающих радиопротекторными свойствами [7–10].

Снижение токсичности микроорганизмов с одновременной индукцией синтеза радиопротекторных субстанций в процессе ослабления или радиоинаktivации послужили основанием для изучения у облученных микроорганизмов способности оказывать радиозащитное действие при поражении организма ионизирующей радиацией [11, 12]. При этом установлено, что использование как корпускулярных вакцин из грамотрицательных бактерий (сальмонелл, эшерихий, клебсиелл и др.), так и клеточных компонентов метаболитов микробов (эндо-, экзотоксины, полисахариды, ДНК) при назначении веществ микробного происхождения (ВМП) за несколько часов или от 1 до 2 суток до и в первые часы и сутки после облучения способствует значительному повышению выживаемости облученных животных [13–16].

Цель исследования — изучить влияние гамма-лучей на золотистый стафилококк и возможности использования облученных вариантов микробов в качестве противорадиационного средства.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве тест-штамма использовали золотистый стафилококк *Staphylococcus aureus* штамм (шт.) 209, полученный из отдела государственной коллекции микроорганизмов ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», Казань, Россия. Перед облучением культуры выращивали в жидкой питательной среде Китта–Тароцци с добавлением 1% нормальной сыворотки крупного рогатого скота (ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности»; Россия), термостатировали при температуре 37 °С в течение 72 ч. Выраженную трехсуточную культуру разливали в стерильные флаконы и осаждали центрифугированием при 3000 об./мин в течение 40 мин. Супернатант сливали, а центрифугат разводили стерильной дистиллированной водой до концентрации 1×10^9 микробных клеток (м. к.) в 1 см³. Полученную взвесь культуры *St. aureus* фасовали во флаконы по 10 см³, закрывали их резиновыми пробками и обкатывали алюминиевыми колпачками. После этого флаконы с тест-культурой облучали на гамма-установке «Исследователь» (Завод «Балтиец»; Эстония) с источником

излучения ⁶⁰Со при мощности экспозиционной дозы $2,652 \times 10^{-2}$ А/кг в поглощенных дозах 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 и 70 кГр. Степень инаktivации гамма-облученных взвесей *St. aureus* определяли путем высева их на среду Китта–Тароцци с последующим термостатированием в течение 7 суток и ежедневной регистрацией наличия или отсутствия роста микроорганизмов.

С целью отбора радиорезистентных мутантов выросшие одиночные субкультуры многократно пересевали на среду Китта–Тароцци, содержащую нормальную сыворотку крупного рогатого скота, до сплошного роста культуры. Полученные субкультуры при сплошном росте подвергали дальнейшему гамма-облучению в постепенно возрастающих вышеуказанных дозах.

Облученные культуры подвергали микробиологическому анализу, для чего делали серийные разведения в стерильном фосфатном буфере и анализировали на колониеобразующей единице (КОЕ) с помощью стандартных процедур путем посева на чашки Петри с МПА. Последние инкубировали в течение 24 ч при температуре 3 °С. Количество КОЕ подсчитывали на 3 чашках Петри с 30–300 колониями с помощью автоматического счетчика колоний New Brunswick Scientific Rietran II R (New Brunswick Scientific; США) и находили среднее арифметическое для каждого образца. Жизнеспособность клеток выражали в виде среднего $\log_{10} \pm SD$ трех повторностей.

С выращенных культур делали мазки, окрашивали по Граму, микроскопировали под иммерсией с 90-кратным увеличением.

Противорадиационную активность облученных вариантов *St. aureus* и радиорезистентного варианта *St. aureus* шт. 209R испытывали на облученных в летальных дозах беспородных белых мышах со средней живой массой 18–20 г. Моделирование острой лучевой болезни (ОЛБ) осуществляли с помощью стационарной гамма-установки «Пума» (АО «В/О «Изотоп»; Россия) с источником излучения ¹³⁷Cs в дозе 7,9 Гр (ЛД_{100/30}) с мощностью дозы $2,5 \times 10^{-5}$ А/кг неравномерностью гамма-поля, не превышающей 10%.

Опыты проводили на 117 белых мышах, разделенных на 13 групп по 9 животных в каждой. Животные 12 групп были подвергнуты гамма-облучению в летальной дозе (7,9 Гр) и через 3 суток однократно подкожно в объеме 0,2 см³ (2×10^8 м. к./особь) им вводили исходную необлученную культуру *St. aureus* шт. 209 (1-я группа), облученную в дозе 30 кГр культуру *St. aureus* шт. 209 (2-я группа), облученную в дозе 35 кГр культуру *St. aureus* шт. 209 (3-я), облученную в дозе 40 кГр культуру *St. aureus* шт. 209 (4-я), облученную в дозе 45 кГр культуру *St. aureus* шт. 209 (5-я), облученную в дозе 50 кГр культуру *St. aureus* шт. 209 (6-я), облученную в дозе 55 кГр культуру *St. aureus* шт. 209 (7-я), облученную в дозе 60 кГр культуру *St. aureus* шт. 209 (8-я), облученную в дозе 65 кГр культуру *St. aureus* шт. 209 (9-я), облученную в дозе 70 кГр культуру *St. aureus* шт. 209 (10-я), радиорезистентную культуру *St. aureus* шт. 209R₇₀ (11-я). Облученным животным контрольной группы (12-я группа) в аналогичных условиях вводили 0,2 см³ физиологического раствора. Животных 13-й группы не облучали и не лечили, они служили биологическим контролем.

За облученными, контрольными и опытными животными вели наблюдения в течение 30 суток, регистрируя павших и выживших животных. Влияние испытываемых веществ микробного происхождения оценивали по критерию выживаемости и срокам продолжительности жизни (СПЖ), морфологическому и биохимическому составу крови общепринятыми в радиационной гематологии методикам,

состоянию антиоксидантной защиты (по уровню синтеза малонового диальдегида).

Учитывая, что облучение животных, растений и микроорганизмов сопровождается образованием токсических продуктов радиолитиза (радиотоксинов), опыты проводили по индикации указанных метаболитов в исходной и облученных культурах стафилококка. Для индикации радиотоксинов в исследуемых пробах использовали РНГА-тест путем постановки реакции непрямого гемагглютинации (РНГА) с использованием разработанного нами антительного варианта противорадиационного эритроцитарного диагностикума (АТЭД), представляющего собой сенсibilизированные антирадиотоксической гипериммунной сывороткой формализированные и танизированные эритроциты барана.

Иммунохимический анализ дезинтегрантов облученных вариантов *St. aureus* шт. 209 проводили путем постановки РНГА с АТЭД. Для этого из полученных дезинтегрантов готовили последовательные двукратные (1 : 2, 1 : 4, 1 : 8 и т. д.) разведения антигена на физиологическом растворе и добавляли к каждому разведению по 1 капле (330 мкл) сенсibilизированных антирадиотоксической сывороткой формализированные и танизированные эритроциты барана — АТЭД. Смесь испытуемых антигенов и диагностикума тщательно перемешивали до гомогенной взвеси и оставляли на 2–2,5 ч в термостате при температуре 37 °С.

Результаты реакции оценивали по общепринятой в иммунологии методике. Количественную оценку реакции выражали в титрах радиотоксина (1 : 2, 1 : 4, 1 : 8 и т. д.) или в логарифмах с основанием 2 (1 : 2 = 1log₂; 1 : 4 = 2log₂ и т. д.).

Реакцию сопровождали соответствующими контролями. В качестве положительного контроля в РНГА использовали стандартный хиноидный радиотоксин, полученный от летально облученного *St. aureus* шт. 209, а в качестве отрицательного контроля использовали необлученный вариант указанной культуры.

На следующем этапе работы проводили исследования по определению пероксидазной активности в клеточной суспензии и культуральной жидкости радиорезистентного варианта *St. aureus* шт. 209R₇₀ [17]. При этом в качестве окисляемого субстрата использовали пирогаллол, который окислялся в пурпурогаллин с максимумом поглощения. Измерение оптической плотности проводили на спектрофотометре СФ-46 (ОАО «ЛОМО»; Россия). Клеточную суспензию и культуральную жидкость исходные и радиорезистентные варианты *St. aureus* получали общепринятым методом путем центрифугирования бульонной культуры, разводя центрифугат до концентрации 1 × 10³ м. к./см³, а супернатант использовали как культуральную жидкость.

Исследуемый раствор содержал 0,8 мг 0,006 М натрий-фосфат буфера рН 6,8; 0,12 см³ ферментной вытяжки (суспензия, центрифужная жидкость); 0,5 см³ 0,15%-ной Н₂О₂; 1,1 см³ Н₂О и 0,5 см³ 0,003 М пирогаллола. В контроле вместо Н₂О₂ добавляли 0,5 см³ Н₂О.

Активность фермента определяли по формуле:

$$A = D_{t_2} - D_{t_1} / (t_2 - t_1) \times c,$$

где A — активность фермента, D — оптическая плотность, t — время, c — концентрация.

Измерения проводили в течение 2,5–3 мин.

В следующей серии опытов изучали механизм противорадиационного действия *St. aureus* шт. 209R₇₀ на

облученный организм. Для этой цели опыты проводили на 30 белых мышах живой массой от 15 до 20 г, разделенных на три группы по 10 животных в каждой. Животных 1-й и 2-й групп подвергли гамма-облучению на установке «Пума» в летальной дозе (7,9 Гр, ЛД_{100/30}). Через 3 суток после облучения животным 1-й группы однократно подкожно вводили радиорезистентный вариант *St. aureus* шт. 209R₇₀ с титром 1 × 10⁸ м. к./особь в объеме 0,2 см³. Облученным в указанной дозе гамма-лучей животным 2-й группы вводили 0,2 см³ стерильного инъекционного раствора (контроль облучения). Необлученные животные 3-й группы никакие средства не получали — служили биологическим контролем.

За облученными животными вели наблюдение в течение 30 суток, изучая клинику, форму течения ОЛБ. Противорадиационную активность препарата оценивали по выживаемости, СПЖ, а также по морфологическому составу крови, состоянию системы антиоксидантной защиты, синтезу цитокинов и реакции системы клеточного обновления (опустошение и восстановление кроветворных клеток костного мозга).

Цитокининдуцирующую активность радиорезистентного варианта *St. aureus* шт. 209R₇₀ оценивали путем определения концентрации интерлейкина 1β (IL1β) в сыворотке крови и суспензии костного мозга методом иммуноферментного анализа (ИФА) через 24, 48, 72 ч после облучения и применения лечебного препарата. Коммерческий набор Mouse IL1β для ИФА (Biosource, R&D и Eudogen; США) имел предел чувствительности для IL1β 50 нг/см³ [18]. Для оценки уровня секреции ИЛ1β клетками костного мозга бедренную кость отпрепарировали в асептических условиях, тщательно измельчали в 0,5 см³ физиологическом растворе с добавлением гепарина. Полученную суспензию инкубировали в течение 5 ч при 37 °С, а затем центрифугировали 10 мин при 800 g. Содержание цитокинов в супернатанте определяли в расчете на 1 млн клеток костного мозга и на общее количество миелокариоцитов в бедре.

В качестве интегрального показателя противорадиационного эффекта испытуемого средства использовали 30-суточную выживаемость. Гемопротекторный эффект препарата оценивали путем подсчета клеток периферической крови на автоматическом анализаторе MINOS STO (Horiba ABX Diagnostics; Франция). Функциональную полноценность системы антиоксидантной защиты определяли путем измерения концентрации в сыворотке крови стабильных альдегидных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), реагирующей с тиобарбитуровой кислотой [19].

Материалы исследований обрабатывали статистически с использованием параметрических методов. Степень достоверности результатов между сравнительными показателями определяли по критерию Стьюдента с поправками Бонферрони.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Изучение радиочувствительности тест-штамма *St. aureus* 209 к гамма-лучам показало, что микроорганизм обладает высокой радиорезистентностью. Результаты наших исследований показали, что отсутствие роста наблюдалось лишь в образце, облученном в дозе 70 кГр, при наличии слабого роста в диапазоне доз от 45 до 65 кГр [20].

После облучения в дозах от 40 до 70 кГр рост культур отсутствовал в течение 4 суток после высева,

Таблица 1. Выживаемость летально облученных белых мышей на фоне применения испытуемых вариантов *St. aureus* шт. 209 через 3 суток после однократного подкожного введения лечебного средства, $n = 9$

Номер группы	Вариант <i>Staphylococcus aureus</i> шт. 209 нативный и облученный в разных дозах	Метод и объем введения препарата, см ³	СПЖ, сут.	Выживаемость, %
1	Исходный шт. <i>St. aureus</i> 209	подкожно, 0,2	8	22,2
2	<i>St. aureus</i> шт. 209, обл. в дозе 30 кГр	подкожно, 0,2	12,7	66,6
3	<i>St. aureus</i> шт. 209, обл. в дозе 35 кГр	подкожно, 0,2	13,7	66,6
4	<i>St. aureus</i> шт. 209, обл. в дозе 40 кГр	подкожно, 0,2	11,5	55,5
5	<i>St. aureus</i> шт. 209, обл. в дозе 45 кГр	подкожно, 0,2	11,2	44,4
6	<i>St. aureus</i> шт. 209, обл. в дозе 50 кГр	подкожно, 0,2	11	44,4
7	<i>St. aureus</i> шт. 209, обл. в дозе 55 кГр	подкожно, 0,2	9	44,4
8	<i>St. aureus</i> шт. 209, обл. в дозе 60 кГр	подкожно, 0,2	8,7	22,2
9	<i>St. aureus</i> шт. 209, обл. в дозе 65 кГр	подкожно, 0,2	8,4	22,2
10	<i>St. aureus</i> шт. 209, обл. в дозе 70 кГр	подкожно, 0,2	7,8	22,2
11	<i>St. aureus</i> шт. 209R ₇₀ (радиорезистентный вариант)	подкожно, 0,2	17,5	77,7
12	Контроль облучения	–	6,8	0
13	Биологический контроль	–	–	–

Примечание: м. к. — микробные клетки; шт. — штамм; обл. — облученный.

а при длительном культивировании (120 ч) выросли единичные колонии. Поэтому опыты по изучению формирования радиорезистентности исходной культуры к гамма-лучам в процессе последовательного облучения выживших колоний в возрастающих дозах излучений были продолжены. При этом для получения радиорезистентного варианта *St. aureus* выросшие единичные колонии после летального облучения (40 кГр) подвергали длительному пассиву на средах Китта–Тароцци, МПА и МПБ до получения сплошного роста культуры. Такие операции повторяли многократно с использованием возрастающих доз гамма-лучей 45, 50, 55, 60, 65 и 70 кГр.

При микроскопии мазков, изготовленных из облученной культуры и окрашенной по Граму, в поле зрения отчетливо обнаруживаются грамположительные одиночные и парные кокки в виде несимметричных виноградных гроздей, характерные для данной культуры.

В результате проведенных исследований установлено, что из исходной культуры *St. aureus* шт. 209 путем отбора выживших единичных колоний после каждой дозы облучения и длительного пассивирования на соответствующих питательных средах, на 10-м пассаже после облучения в дозе 70 кГр, получили радиорезистентный вариант *St. aureus* шт. 209R₇₀, радиостойчивость к гамма-лучам которого превосходила исходный штамм в два раза.

Облученные в вышеуказанных дозах от 30 до 70 кГр *St. aureus* 209 (30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70) и радиорезистентный вариант (*St. aureus* шт. 209R₇₀), на следующем этапе работы были испытаны на радиозащитные свойства на летально облученных белых мышах.

При подкожном введении облученных культур *St. aureus* шт. 209 у отдельных животных на месте введения образовывалась небольшая припухлость, которая в течение суток рассасывалась. В контрольной группе у животных, которым вводили *St. aureus* шт. 209 (исходная необлученная культура), на месте инъекции наблюдали припухлость, местную гиперемию, болезненность.

Противорадиационная активность испытанных необлученного и облученных вариантов *St. aureus* 209, изученная на летально облученных белых мышах, представлена в табл. 1.

Облучение стафилококков гамма-лучами в дозах от 30 до 40 кГр приводит к модификации тест-микробов, сопровождающейся повышением их противорадиационной активности, обеспечивая от 55 до 66,6% выживаемости летально облученных животных, что превышает исходный противорадиационный уровень в 1 группе в 2–3 раза (табл. 1). Дальнейшее увеличение дозы облучения исходной культуры оказывает отрицательное действие на микробы — противорадиационный уровень облученных животных в дозах от 45 до 70 кГр снижается от 44,4 до 22,2% соответственно.

В отличие от однократного облучения исходной культуры в дозах от 30 до 70 кГр, многократное облучение исходной культуры, полученное в ходе эксперимента из субкультур стафилококков в постепенно возрастающих дозах, оказывало модифицирующее действие на тест-микробы. Противорадиационная активность радиорезистентного варианта *St. aureus* шт. 209R₇₀ превышала таковую исходного штамма в 3,5 раза и составляла 77,7%. При этом отмечено, что при использовании облученных вариантов *St. aureus* в качестве радиозащитных препаратов наряду с повышением выживаемости летально облученных животных наблюдали также увеличение другого важного показателя радиозащиты — средней продолжительности жизни павших животных (СПЖ).

Как видно из приведенных данных, СПЖ у больных ОЛБ животных после применения необлученного варианта *St. aureus* шт. 209 составляла 8,0 дней. Применение облученных в дозах от 30 до 50 кГр культуры приводило к увеличению этого показателя до 11,0–13,7 дней (варианты 6, 5, 4, 3, 2). Использование радиорезистентного препарата *St. aureus* шт. 209R₇₀ в качестве радиозащитного препарата обеспечивало увеличение срока продолжительности жизни павших животных до 17,5 дней против 8,0 дней у исходного штамма стафилококка, что превышает таковой исходного штамма в 2,19 раза.

Повторение вышеописанных экспериментов на другом виде лабораторных животных — белых крысах, облученных в летальных дозах (9,5 Гр, ЛД_{100/30}) и леченных радиомодифицированными вариантами *St. aureus* шт. 209 (30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70) и радиорезистентным

Таблица 2. Результаты индикации радиотоксина в облученных различными дозами гамма-лучей вариантах *Staphylococcus aureus* шт. 209

Культура золотистого стафилококка и ее облученные варианты	Доза облучения, кГр	Концентрация радиотоксина, log ₂	Выживаемость летально облученных животных на фоне применения облученных вариантов <i>St. aureus</i>
Исходная <i>St. aureus</i> шт. 209 (необлученная)	–	0,7 ± 0,01	22,2
<i>St. aureus</i> шт. 209 (30)	30	2,0 ± 0,3	66,6
<i>St. aureus</i> шт. 209 (35)	35	3,0 ± 0,5	66,6
<i>St. aureus</i> шт. 209 (40)	40	4,0 ± 0,7	55,5
<i>St. aureus</i> шт. 209 (45)	45	6,0 ± 0,9	44,4
<i>St. aureus</i> шт. 209 (50)	50	7,0 ± 1,2	44,4
<i>St. aureus</i> шт. 209 (55)	55	7,5 ± 0,9	44,4
<i>St. aureus</i> шт. 209 (60)	60	8,0 ± 1,5	22,2
<i>St. aureus</i> шт. 209 (65)	65	9,0 ± 1,7	22,2
<i>St. aureus</i> шт. 209 (70)	70	10,0 ± 2,1	22,2
<i>St. aureus</i> шт. 209R70 (радиорезистентный вариант)	70	2,4 ± 1,6	77,7

Примечание: шт. — штамм.

вариантом (*St. aureus* шт. 209R₇₀), показало аналогичные результаты.

Облучение исходной культуры *St. aureus* шт. 209 гамма-лучами в дозах от 30 до 70 кГр оказывает разнонаправленное действие на способность облученных культур индуцировать различную степень радиорезистентности организма летальному облучению (табл. 1). При этом установлено, что культуры *St. aureus* шт. 209, облученные в дозах от 30 до 40 кГр, повышали противорадиационный уровень до 66,6%, а облучение исходной культуры в дозах, начиная с 45 кГр и выше, оказывало противоположное действие, снижая радиозащитную активность облученных вариантов стафилококков до 22,2%.

Результаты индикации хиноидного радиотоксина в дезинтеграторах облученного различными дозами гамма-лучей золотистого стафилококка в РНГА тест-системе с антительным вариантом эритроцитарного диагностикума представлены в табл. 2.

Облучение стафилококка гамма-лучами индуцирует усиление синтеза токсических продуктов радиолиза (радиотоксинов), которые в малых дозах (2,0–4,0 log₂) оказывают стимулирующее действие на организм (табл. 2). Выживаемость летально облученного животного повышается до 66,6%, а избыточное образование токсических продуктов (6,0–10,0 log₂) снижает выживаемость облученных животных, противорадиационный процент при этом составляет от 44,4 до 22,2%. Следовательно, оптимальной дозой облучения культуры стафилококка гамма-лучами составляет 30–35 кГр, а повышение дозы облучения ведет к усилению синтеза микроорганизмом радиотоксина, то есть обуславливает снижение противорадиационных факторов облученных вариантов *St. aureus*.

В этой связи представляет интерес повышение противорадиационных свойств радиорезистентного варианта *St. aureus* шт. 209R₇₀, полученного путем многократного облучения исходной культуры и ее

субкультур постепенно возрастающими дозами от 30 до 70 кГр. Известно, что развитие радиорезистентности сопровождается синтезом антиокислительных ферментов (каталазы, супероксиддисмутазы), проводили опыты по определению антиокислительного фермента — пероксидазы. Выбор указанного фермента для исследования обусловлен тем, что пероксидаза является антиоксидантным ферментом, одна из основных функций которого — это разрушение опасных для жизнедеятельности клеток токсических продуктов радиолиза — пероксидов.

Результаты измерения пероксидазной активности вариантов *St. aureus* шт. 209 и *St. aureus* шт. 209R₇₀ представлены в табл. 3.

Оба опытных варианта *St. aureus* обладают пероксидазной активностью (табл. 3). Однако у радиорезистентного варианта она была в 2,17 раза больше ($p < 0,01$) по сравнению с исходным вариантом микроба. Аналогичную тенденцию увеличения пероксидазной активности наблюдали в культуральной жидкости, в которой выращивали испытуемые микробы. При этом концентрация пероксидазы в культуральной жидкости, полученной при выращивании *St. aureus* шт. 209R₇₀, была в 3 раза выше ($p < 0,001$), чем таковая исходной культуры.

Полученные в этом эксперименте данные относительно повышения концентрации антиоксидантного фермента пероксидазы в культуральной жидкости во время инкубирования *St. aureus* шт. 209R₇₀ показывают то, что испытуемая культура способна синтезировать и экспрессировать данный фермент *in vivo*, то есть в организме интактных и облученных животных, оказывая антиоксидантное и, следовательно, противорадиационное действие.

С учетом сказанного нами была проведена серия опытов по изучению механизма радиозащиты организма на фоне применения радиорезистентных вариантов *St. aureus* шт. 209R₇₀ в качестве потенциального противорадиационного средства.

Таблица 3. Пероксидазная активность клеток исходной и радиорезистентной культуры *St. aureus* шт. 209

Штамм бактерий	Уровень пероксидазной активности (с ⁻¹ мг ⁻¹)	
	клеточная суспензия	культуральная жидкость
<i>St. aureus</i> шт. 209 (исходная культура)	0,123 × 10 ⁻³ ± 0,01	0,031 × 10 ⁻³ ± 0,01
<i>St. aureus</i> шт. 209 R ₇₀ (радиорезистентная культура)	0,267 × 10 ⁻³ ± 0,03**	0,09 × 10 ⁻³ ± 0,009***

Примечание: ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$; шт. — штамм.

Таблица 4. Показатели системы крови белых мышей на 10 сутки после облучения и однократного подкожного введения *St. aureus* шт. 209R₇₀, *n* = 10

Показатель	Группа животных		
	Контроль	Облучение	Облучение + лечение <i>St. aureus</i> шт. 209 R ₇₀
Количество лейкоцитов в периферийной крови, ×10 ⁹ /л	5,4 ± 0,7	1,95 ± 0,1×××	4,98 ± 0,5
Количество нейтрофилов в периферийной крови, ×10 ⁹ /л	2,17 ± 0,3	1,03 ± 0,5××	1,95 ± 0,2
Количество лимфоцитов в периферийной крови, ×10 ⁹ /л	4,39 ± 0,4	1,63 ± 0,3×××	3,98 ± 0,9
Количество миелокариоцитов в костном мозге бедра, ×10 ⁶ /л	27,1 ± 1,3	15,7 ± 0,5××	26,3 ± 0,7

Примечание: ×× — *p* < 0,01; ××× — *p* < 0,001; шт. — штамм.

Результаты динамического наблюдения за подопытными животными показали, что однократное подкожное введение радиорезистентного варианта *St. aureus* шт. 209R₇₀ оказывало радиомодифицирующее действие, изменяя как течение ОЛБ, так и выживаемость облученных животных, а также увеличивая срок продолжительности жизни павших животных. При этом установлено, что ОЛБ у контрольных (облученных) животных протекала в тяжелой форме с СПЖ 6,8 суток. В отличие от контроля, у животных опытной группы, получавших в качестве противорадиационного средства *St. aureus* шт. 209R₇₀, ОЛБ проходила в более легкой форме. При этом выживаемость животных составляла 77,7%, а СПЖ павших животных составлял 17,5 против 6,8 сут в контрольной группе облучения.

Повышение выживаемости летально облученных животных на фоне применения испытуемого препарата сопровождалось коррекцией радиоиндуцированной панцитопении (табл. 4).

Летальное облучение белых мышей вызывает гемотоксическое действие, сопровождающееся опустошением костного мозга (гибель миелокариоцитов) и угнетением гемопоэза (достоверная лейко- и лимфопения) (табл. 4). Применение испытуемого препарата оказывало гемопротекторное и миелопротекторное действия, предотвращая развитие тяжелой панцитопении, сохраняя пул миелоцитов и гранулоцитов в костном мозге и периферической крови.

Гемопротекторное действие испытуемого препарата реализовалось путем ингибирования синтеза токсических продуктов радиолитиза (малондальдегида) и усиленного синтеза медиаторов иммуногемопоэза цитокинов (табл. 5).

Летальное облучение животных гамма-лучами сопровождается резким увеличением МДА (в 5,85 раза, *p* < 0,001) в сыворотке крови с одновременным снижением синтеза иммунорегуляторного цитокина — IL1β (табл. 5).

Применение на этом фоне веществ микробного происхождения (радиорезистентного варианта *St. aureus*

шт. 209R₇₀) оказывает антиоксидантное действие, ингибируя процессы свободнорадикального и перекисного окисления липидов, снижая синтез альдегидных продуктов ПОЛ малондальдегида.

Одновременно используемый препарат микробного происхождения проявил себя как усилитель синтеза интерлейкина IL1β в периферической крови и костном мозге облученных животных.

Описанные биохимические изменения в органах иммуногемопоэза под воздействием препарата микробного происхождения обеспечивают 70% выживаемость летально облученных животных.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В последние годы, при изучении различных аспектов механизма противолучевого действия, отечественными и зарубежными исследователями был накоплен экспериментальный материал, свидетельствующий о способности веществ микробного происхождения (эндотоксины, полисахариды, анатоксины и т. д.) повышать резистентность организма к ионизирующим излучениям [4, 11, 13–16]. С учетом изложенного проводили настоящие исследования по оценке радиозащитных свойств радиомодифицированного варианта *St. aureus*.

Проведенные опыты убедительно показали, что облучение стафилококков гамма-лучами в дозах 30–40 кГр оказывает на микробы модифицирующее действие, повышая их противорадиационные свойства на 22,2% по сравнению с исходной культурой. Эти результаты хорошо согласуются со всеми литературными данными по изучаемой проблеме. Многими авторами было показано, что корпускулярные микробы, микробные полисахариды, экзо-, эндотоксины и анатоксины на 20–30% повышают выживаемость экспериментальных животных, подвергшихся воздействию ионизирующей радиации в дозах порядка ЛД_{80-90/30} [21]. Не подлежит сомнению,

Таблица 5. Концентрация малондальдегида (МДА) и IL1β в сыворотке крови и костном мозге летально облученных и леченных *St. aureus* 209R₇₀ белых мышей через 8 суток после облучения и лечения, *n* = 10

Показатель	Группа животных		
	Контроль	Облучение	Облучение + лечение <i>St. aureus</i> 209R ₇₀
Концентрация МДА в сыворотке крови, мкмоль/г белка	0,87 ± 0,05	5,09 ± 0,37***	1,05 ± 0,15
Концентрация IL1β в сыворотке крови, нг/мл	55,1 ± 3,7	41,1 ± 5,9	87,1 ± 2,5
Концентрация IL1β в костном мозге бедра, нг на 1 млн клеток	1,93 ± 0,31	1,05 ± 0,17**	1,78 ± 0,25

Примечание: ** — *p* < 0,01; *** — *p* < 0,001.

что этими же свойствами обладают и липополисахариды стафилококков, содержащихся в вакцинных и других бактериальных препаратах [22].

Выбор стафилококков в качестве модели для конструирования микробного радиопротектора обоснован тем, что, во-первых, эти микробы продуцируют сильные экзо- и эндотоксины, которые под воздействием физико-химических факторов (УФ-, ионизирующая радиация, формалин и т. д.) переходят в анатоксины, обладающие радиозащитными свойствами [23], во-вторых, *St. aureus* обладает мощной антиоксидантной системой и способностью индуцировать антиоксидантные ферменты [24] и цитокины [25] и, в-третьих, из фаголизатов патогенных штаммов стафилококков получают высокоэффективные лечебные препараты широкого спектра биологического действия.

При проведении настоящих исследований исходили из того, что известна роль микроорганизмов в защите против действия ионизирующей радиации. Под влиянием веществ микробного происхождения в организме животных активируются защитные механизмы в виде усиления пролиферации кроветворных клеток гранулярного и лимфоидного рядов, непосредственно участвующих в реакции иммунного ответа, возрастает количество тромбоцитов, гранулоцитов, гемоглобина, усиливается активность эндогенных и экзогенных клеток лимфоидной системы селезенки, лимфоузлов [26]. Кроме этого, также учитывали, что облучение микробов в дозах, недостаточных для разрушения молекул их ДНК, не вполне приемлемых для ДНК перестройки с изменением фрагментов ДНК цепочек, может привести к образованию бактерий-мутантов с отличительными культурально-морфологическими свойствами с приобретением некоторых полезных качеств, а именно способностью продуцировать определенные субстанции, полезные с точки зрения человеческой практики [27].

С учетом необходимости разработки новых безопасных и эффективных противорадиационных средств для лечения ОЛБ, нами были проведены настоящие исследования по оценке противорадиационного действия ВМП, в качестве которых использовали препараты, полученные из стафилококков. Как рабочую гипотезу при проведении исследований мы использовали данные о том, что физическое воздействие на микробы индуцирует повышение радиорезистентности облученного организма путем индукции микроорганизмами Toll-подобных рецепторов (TLR) [4].

Для проверки правомочности этой гипотезы мы воздействовали на стафилококки гамма-лучами в широком диапазоне доз от 30 до 70 кГр. Опыты показали, что гамма-облучение стафилококков, в зависимости от дозы, оказывает разнонаправленное действие на микроорганизм, повышая или снижая радиозащитную эффективность *St. aureus*. Установлено, что облученные гамма-лучами культуры стафилококка в дозах от 30, 35 и 40 кГр обладали радиозащитной активностью, защищая 55,5–66,6% летально облученных белых мышей от радиационной гибели. Однако дальнейшее повышение дозы облучения (от 45 до 70 кГр) оказывало противоположный эффект, снижая уровень защиты животных от ОЛБ. Снижение радиозащитной активности облученных в высоких дозах вариантов *St. aureus* объясняется усилением образования радиотоксинов в облученных культурах, что и обуславливает повышение смертности облученных животных, вследствие суммации (потенцирования) токсических эффектов облученных микробов и макроорганизма [20].

Многokратное облучение микроорганизмов постепенно возрастающими дозами ионизирующих излучений ведет к ступенчатому возрастанию радиорезистентности [27], сопровождающейся изменением метаболизма клеток с индукцией эндогенных радиопротекторов [21], и нами были проведены исследования по получению радиозащитного варианта *St. aureus*. Путем многократного облучения тест-микроба постепенно возрастающими дозами гамма-лучей в диапазоне 30–70 кГр нами был получен радиорезистентный вариант *St. aureus* 209R₇₀, который выживал при сверхлетальной дозе облучения (70 кГр). Изучая механизм формирования направленного приобретения чрезвычайной радиорезистентности *St. aureus* установили, что процесс адаптационного приспособления к сверхлетальной дозе гамма-лучей сопровождается изменением метаболизма микробных клеток с увеличением антиоксидантного фермента — пероксидазы, играющей одну из ключевых ролей в условиях воздействия на организм стресс-факторов, в том числе ионизирующей радиации [17]. Полученные нами данные согласуются с данными других исследователей, которые наблюдали у радиотерморезистентных мутантов *St. aureus* усиление продукции антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, гидропероксидазы), убихинона, усиленной рекомбинационной репарации ДНК [7, 28].

Способность радиоустойчивого варианта *St. aureus* синтезировать антиоксидантные ферменты в процессе его радиоадаптации обуславливала повышение его противорадиационных свойств при применении его в качестве противолучевого средства в условиях *in vivo*. В опытах на белых мышах, облученных гамма-лучами в абсолютно летальных дозах (7,9 Гр, ЛД_{100/30}), показано, что однократное подкожное введение радиорезистентного варианта *St. aureus* 209R₇₀ в дозе 2×10^8 м. к./особь через 3 суток после облучения обеспечивало 77% выживаемость при 100% гибели нелеченых животных. Повышение выживаемости облученных и леченых *St. aureus* 209R₇₀ животных сопровождалось переходом острой формы ОЛБ в легкую, которая была обусловлена предотвращением панцитопении и депопуляции костного мозга. Механизм гемо- и миелопротекторного эффекта облученного гамма-лучами микроба (*St. aureus* 209R₇₀) реализовался, во-первых, путем перехвата и нейтрализации антирадикальными ферментами (пероксидазой и супероксиддисмутазой) радиоиндуцированных токсических продуктов радиолитического распада (малондиальдегида), основной мишенью атаки которых служат клетки системы иммуногемопоеза (лимфоциты, моноциты, стволовые клетки костного мозга) и, во-вторых, путем индукции испытуемым микроорганизмом цитокинов (в нашем случае IL1 β), инициирующих пострадиационное восстановление гемопоеза, что согласуется с данными других исследователей [29, 30].

ВЫВОДЫ

Полученные данные свидетельствуют о том, что лечебные средства, полученные на основе *St. aureus*, подвергнутые радиационному воздействию в диапазоне доз от 30 до 40 кГр, обладают противорадиационной эффективностью, обеспечивая 66,6% выживаемость летально облученных животных, а радиорезистентный вариант *St. aureus* шт. 209R₇₀ превосходит указанные препараты, увеличивая до 77,7% выживаемость облученных в ЛД_{100/30} животных от радиационной гибели.

Вещества микробного происхождения перспективны и целесообразны, поскольку препараты этого класса являются безвредными и, главное, обладают полифункциональными (иммунотропными, антиоксидантными, гемо- и миелопротективными) свойствами.

Литература

- de Cassan D, Hoheisel AL, Glasmacher B. Impact of sterilization by electron beam, gamma radiation and X-rays on electrospun poly-(ε-caprolactone) fiber mats. *J Mater Sci: Mater Med*. 2019; 30: 42. DOI: 10.1007/s10856-019-6245-7.
- Tapia-Guerrero YS, Del Prado-Audelo ML, Borbolla-Jiménez FV, Gomez D, García-Aguirre I, Colín-Castro CA, et al. Effect of UV and Gamma Irradiation Sterilization Processes in the Properties of Different Polymeric Nanoparticles for Biomedical Applications. *Materials* (Basel, Switzerland). 2020; 13 (5): 1090. DOI: 10.3390/ma13051090.
- Shehata MM, Gomaa FA, Helal Z. Effects of gamma and electron beam irradiation on viability and DNA elimination of *Staphylococcus aureus*. *Archives of Clinical Microbiology*. 2011; 121: 44–55. DOI: 10.3823/244.
- Xu Y, Chen Y, Liu H, Lei X, Guo J, Cao K, et al. Heat-killed salmonella typhimurium (HKST) protects mice against radiation in TLR4-dependent manner. *Oncotarget*. 2017; 40 (8): 67082–93. DOI: 10.18632/oncotarget.17859.
- Tobin GJ, Tobin JK, Gaidamakova EK, Wiggins TJ, Bushnell RV, Lee WM, et al. A novel gamma radiation-inactivated sabin-based polio vaccine. *PloS one*. 2020; 15 (1): e0228006. DOI: 10.1371/journal.pone.0228006.
- Mullbacher A, Pardo J, Furuya Y. SARS-CoV-2 Vaccines: Inactivation by Gamma Irradiation for T and B Cell Immunity. *Pathogens* (Basel, Switzerland). 2020; 9 (11): 928. DOI: 10.3390/pathogens9110928.
- Bruno-Barcena JM, Azcárate-Peril AM, Hassan HM. Role of antioxidant enzymes in bacterial resistance to organic acids. *Applied and Environmental Microbiology*. 2010; 76 (9): 2747–50. DOI: 10.1128/AEM.02718-09.
- Mun GI, Kim S, Choi E, Kim CS, Lee YS. Pharmacology of natural radioprotectors. *Archives of pharmacol research*. 2018; 41 (11): 1033–50. DOI: 10.1007/s12272-018-1083-6.
- Montoro A. Radioprotection and Radiomitigation: From the Bench to Clinical Practice. *Biomedicines*. 2020; 8 (11): 461. DOI: 10.3390/biomedicines8110461.
- Гайнутдинов Т. Р. Оценка противорадиационной эффективности препаратов, полученных на основе веществ микробного происхождения. *Ветеринарный врач*. 2024; 1: 52–7. DOI: 10.33632/1998-698X_2024_1_52.
- Riehl TE, Alvarado D, Ee X, Zuckerman A, Foster L, Kapoor V, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG protects the intestinal epithelium from radiation injury through release of lipoteichoic acid, macrophage activation and the migration of mesenchymal stem cells. *Gut*. 2019; 68 (6): 1003–13. DOI: 10.1136/gutjnl-2018-316226.
- Gaynutdinov TR, Nizamov RN, Idrisov AM, Rakhmatullina GI, Guryanova VA. Obtaining radioactivated strains of microorganisms and studying their antiradiation efficiency IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 2021; 723: 042008. DOI: 10.1088/1755-1315/723/4/042008.
- Иванов А. А., Симбирцев А. С., Мальцев В. Н., Петров Л. Н., Андрианова И. Е., Ставракова Н. М. и др. Снижение опасности носительства условно-патогенной микрофлоры при радиационном поражении с помощью пробиотика «Витафлор» и антибиотиков. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2013; 1 (43): 76–81.
- Кобатов А. И., Вербицкая Н. Б., Полоцкий А. Е., Савин И. И., Гребенюк А. Н. Разработка технологии получения кислomолочного продукта на борту космического корабля и оценка его пробиотических и потенциальных радиозащитных свойств. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2019; 21 (4): 517–26.
- Кобатов А. И., Полинцев Д. Г., Савин И. И., Попова Е. В., Кутник И. В. Космический эксперимент «Пробиовит»: итоги и перспективы (Часть 1). *Пилотируемые полеты в космос*. 2023; 1 (46): 74–87.
- Кобатов А. И., Полинцев Д. Г., Савин И. И., Попова Е. В., Кутник И. В. Космический эксперимент «Пробиовит»: итоги и перспективы (Часть 2). *Пилотируемые полеты в космос*. 2023; 2 (47): 87–98.
- Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev*. 1979; 59 (3): 527–605. DOI: 10.1152/physrev.1979.59.3.527.
- Mathialagan N, Roberts RM. A role for cytokines in early pregnancy. *Indian J Physiol Pharmacol*. 1994; 38: 153–62. PubMed PMID: 7814074.
- Гурьянова В. А., Тарасова Н. Б. Перекисное окисление липидов при поражении печени ионизирующей радиацией. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана*. 2013; 213: 76–80.
- Гайнутдинов Т. Р. Экспериментальный подбор доз ионизирующего излучения, вызывающих ингибирование роста и полную инактивацию золотистого стафилококка. *Ветеринарный врач*. 2020; 4: 4–8. DOI: 10.33632/1998-698X.2020-4-4-8.
- Smith WW, Alderman IM, Gillespie RE. Increased survival in irradiated animals treated with bacterial endotoxins. *Am J Physiol*. 1957; 191 (1): 124–30. DOI: 10.1152/ajplegacy.1957.191.1.124.
- Pluznik DY. Beneficial effect on endotoxins. *Immunobiology and Immunopharmacology of Bacterial Endotoxins*. 1986; 7: 124–8. DOI: 10.1007/978-1-4613-2253-5.
- Ledney GD, Wilson R. Protection induced by bacterial endotoxin against whole body X-irradiation germfree and conventional mice. *Proc Soc Exptl Biol Med*. 1996; 118 (4): 1062–5. DOI: 10.3181/00379727-118-30046.
- Алмагамбетов К. Х. Молекулярная биология *Staphylococcus aureus*. *Медицинский журнал Астана*. 2021; 1 (107): 61–8.
- Neta R. Role of cytokines in radioprotection. *Pharmacology end Therapeutics*. 1988; 39 (1–3): 261–6. DOI: 10.1016/0163-7258(88)90070-8.
- Гребенюк А. Н., Стрелова О. Ю., Лерега Т. И., Степанова Е. Н. Основы радиобиологии и радиационной медицины: учебное пособие. СПб.: ООО «Изд-во ФОЛИАНТ», 2012; 232 с.
- Галлямова М. Ю., Вагин К. Н., Гайнутдинов Т. Р., Рахматуллина Г. И., Рыжкин С. А. Влияние ионизирующего излучения на активность антиоксидантных ферментов штамма *Escherichia coli* «ПЛ-6» при многократном облучении. *Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра)*. 2024; 33 (1): 68–76. DOI: 10.21870/0131-3878-2024-33-1-68-76.
- Gaupp R, Lei S, Reed JM, Peisker H, Boyle-Vavra S, Bayer AS, et al. *Staphylococcus aureus* metabolic adaptations during the transition from a daptomycin susceptibility phenotype to a daptomycin nonsusceptibility phenotype. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2015; 59 (7): 4226–38. DOI: 10.1128/AAC.00160-15.
- Linder H, Holler E, Ertl B, Multhoff G, Schreglmann M, Klauke I, et al. Peripheral blood mononuclear cells induce programmed cell death in human endothelial cells and may prevent repair: role of cytokines. *Blood*. 1997; 29 (6): 1931–8. PubMed PMID: 9058713.
- Neta R, Oppenheim J. The role of cytokines in immunoregulation. *Cancer cell*. 1991; 3 (10): 391–6. DOI: 10.1016/0163-7258(88)90070-8.

References

- de Cassan D, Hoheisel AL, Glasmacher B. Impact of sterilization by electron beam, gamma radiation and X-rays on electrospun poly-(ε-caprolactone) fiber mats. *J Mater Sci: Mater Med*. 2019; 30: 42. DOI: 10.1007/s10856-019-6245-7.
- Tapia-Guerrero YS, Del Prado-Audelo ML, Borbolla-Jiménez FV, Gomez D, García-Aguirre I, Colín-Castro CA, et al. Effect of UV and Gamma Irradiation Sterilization Processes in the Properties of Different Polymeric Nanoparticles for Biomedical Applications. *Materials* (Basel, Switzerland). 2020; 13 (5): 1090. DOI: 10.3390/ma13051090.
- Shehata MM, Gomaa FA, Helal Z. Effects of gamma and electron beam irradiation on viability and DNA elimination of *Staphylococcus aureus*. *Archives of Clinical Microbiology*. 2011; 121: 44–55. DOI: 10.3823/244.
- Xu Y, Chen Y, Liu H, Lei X, Guo J, Cao K, et al. Heat-killed salmonella typhimurium (HKST) protects mice against radiation in TLR4-dependent manner. *Oncotarget*. 2017; 40 (8): 67082–93. DOI: 10.18632/oncotarget.17859.
- Tobin GJ, Tobin JK, Gaidamakova EK, Wiggins TJ, Bushnell RV, Lee WM, et al. A novel gamma radiation-inactivated sabin-based polio vaccine. *PLoS one*. 2020; 15 (1): e0228006. DOI: 10.1371/journal.pone.0228006.
- Mullbacher A, Pardo J, Furuya Y. SARS-CoV-2 Vaccines: Inactivation by Gamma Irradiation for T and B Cell Immunity. *Pathogens* (Basel, Switzerland). 2020; 9 (11): 928. DOI: 10.3390/pathogens9110928.
- Bruno-Barcena JM, Azcárate-Peril AM, Hassan HM. Role of antioxidant enzymes in bacterial resistance to organic acids. *Applied and Environmental Microbiology*. 2010; 76 (9): 2747–50. DOI: 10.1128/AEM.02718-09.
- Mun GI, Kim S, Choi E, Kim CS, Lee YS. Pharmacology of natural radioprotectors. *Archives of pharmacol research*. 2018; 41 (11): 1033–50. DOI: 10.1007/s12272-018-1083-6.
- Montoro A. Radioprotection and Radiomitigation: From the Bench to Clinical Practice. *Biomedicines*. 2020; 8 (11): 461. DOI: 10.3390/biomedicines8110461.
- Gaynutdinov TR. Evaluation of the anti-radiation effectiveness of drugs derived from substances of microbial origin. *Veterinary Vrach*. 2024; 1: 52–7. DOI: 10.33632/1998-698X_2024_1_52. Russian.
- Riehl TE, Alvarado D, Ee X, Zuckerman A, Foster L, Kapoor V, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG protects the intestinal epithelium from radiation injury through release of lipoteichoic acid, macrophage activation and the migration of mesenchymal stem cells. *Gut*. 2019; 68 (6): 1003–13. DOI: 10.1136/gutjnl-2018-316226.
- Gaynutdinov TR, Nizamov RN, Idrisov AM, Rakhmatullina GI, Guryanova VA. Obtaining radioactivated strains of microorganisms and studying their antiradiation efficiency IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 2021; 723: 042008. DOI: 10.1088/1755-1315/723/4/042008.
- Ivanov AA, Simbircev AS, Maltsev VN, Petrov LN, Andrianova IE, Stavrakova NM, et al. Lowering risk of being a carrier of opportunistic infections in case of radiation damage by using probiotic vitaflor and antibiotics. *Extreme medicine*. 2013; 1 (43): 76–81. Russian.
- Kobatoev AI, Verbitskaya NB, Polotsky AE, Savin II, Grebenyuk AN. Development of a technology for producing a fermented milk product on space shipboard and evaluation of its probiotic and potential radioprotective properties. *Extreme medicine*. 2019; 21 (4): 517–26. Russian.
- Kobatoev AI, Polyntsev DG, Savin II, Popova EV, Kutnik IV. The «Probiovit» Space Experiment: Outputs and Outlook (Part 1). *Manned Spaceflight*. 2023; 1 (46): 74–87. Russian.
- Kobatoev AI, Polyntsev DG, Savin II, Popova EV, Kutnik IV. The «Probiovit» Space Experiment: Outputs and Outlook (Part 2). *Manned Spaceflight*. 2023; 2 (47): 87–98. Russian.
- Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev*. 1979; 59 (3): 527–605. DOI: 10.1152/physrev.1979.59.3.527.
- Mathialagan N, Roberts RM. A role for cytokines in early pregnancy. *Indian J. Physiol Pharmacol*. 1994; 38: 153–62. PubMed PMID: 7814074.
- Guryanova VA, Tarasova NB. Lipid peroxidation at liver injury by ionizing radiation. *Academic notes of Kazan state academy of veterinary medicine named after N. Bauman*. 2013; 213: 76–80. Russian.
- Gaynutdinov TR. Experimental selection of doses of ionizing radiation causing growth inhibition and full inactivation of golden staphylococci. *Veterinary Vrach*. 2020; 4: 4–8. DOI: 10.33632/1998-698X.2020-4-4-8. Russian.
- Smith WW, Alderman IM, Gillespie RE. Increased survival in irradiated animals treated with bacterial endotoxins. *Am J Physiol*. 1957; 191 (1): 124–30. DOI: 10.1152/ajplegacy.1957.191.1.124.
- Pluznik DY. Beneficial effect on endotoxins. *Immunobiology and Immunopharmacology of Bacterial Endotoxins*. 1986; 7: 124–8. DOI: 10.1007/978-1-4613-2253-5.
- Ledney GD, Wilson R. Protection induced by bacterial endotoxin against whole body X-irradiation germfree and conventional mice. *Proc Soc Exptl Biol Med*. 1996; 118 (4): 1062–5. DOI: 10.3181/00379727-118-30046.
- Almagambetov KKh. Molecular biology of *Staphylococcus aureus*. *Meditsinskiy zhurnal Astana*. 2021; 1 (107): 61–8. Russian.
- Neta R. Role of cytokines in radioprotection. *Pharmacology and Therapeutics*. 1988; 39 (1–3): 261–6. DOI: 10.1016/0163-7258(88)90070-8.
- Grebenyuk AN, Strelova OYu, Legeza TI, Stepanova EN. *Osnovy radiobiologii i radiatsionnoy meditsiny: uchebnoe posobie*. SPb.: OOO «Izd-vo FOLIANT», 2012; p. 232. Russian.
- Gallyamova MYu, Vagin KN, Gaynutdinov TR, Rakhmatullina GI, Ryzhkin SA. The effect of multiple ionizing radiation on the activity of antioxidant enzymes of *Escherichia coli* "PL-6" cells. *Radiation and risk*. 2024; 33 (1): 68–76. DOI: 10.21870/0131-3878-2024-33-1-68-76. Russian.
- Gaupp R, Lei S, Reed JM, Peisker H, Boyle-Vavra S, Bayer AS, et al. *Staphylococcus aureus* metabolic adaptations during the transition from a daptomycin susceptibility phenotype to a daptomycin nonsusceptibility phenotype. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2015; 59 (7): 4226–38. DOI: 10.1128/AAC.00160-15.
- Linder H, Holler E, Ertl B, Multhoff G, Schreglmann M, Klauke I, et al. Peripheral blood mononuclear cells induce programmed cell death in human endothelial cells and may prevent repair: role of cytokines. *Blood*. 1997; 29 (6): 1931–8. PubMed PMID: 9058713.
- Neta R, Oppenheim J. The role of cytokines in immunoregulation. *Cancer cell*. 1991; 3 (10): 391–6. DOI: 10.1016/0163-7258(88)90070-8.