

УДК 577.34:539.1.047:612.014.482

МЕТОДОЛОГИЯ СИСТЕМНОГО АНАЛИЗА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ РАДИОГЕННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ОРГАНИЗМА ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА (ОПЫТ И ТЕНДЕНЦИИ)

© 2024 г. В. Л. Шарыгин*, **

Федеральный исследовательский центр химической физики им. Н.Н. Семенова

РАН (ФИЦ ХФ РАН), Москва, Россия

*E-mail: sharygin@chph.ras.ru

**E-mail: sharygin2011@mail.ru

Поступила в редакцию 30.08.2023 г.

После доработки 15.10.2023 г.

Принята к публикации 24.07.2024 г.

Исследования в активно пролиферирующих тканях фермента рибонуклеотидредуктазы с помощью низкотемпературной ЭПР-спектроскопии и параллельный цитогенетический анализ тканей и крови свидетельствуют о начальных радиационно-индуцированных пусковых событиях, инициирующих генерацию повреждений ДНК в органах кроветворения. Изучение комплекса ЭПР-характеристик метаболических реакций с участием свободных радикалов и парамагнитных металлокомплексов выявило выраженный дозозависимый динамический SOS-ответ важнейших систем жизнеобеспечения организма в условиях общего γ -облучения. В механизме противолучевого эффекта радиопротекторов повышение активности рибонуклеотидредуктазы и индуцирование синтеза дезоксирибонуклеотидов необходимо для эффективной репарации повреждений и синтеза ДНК в клетках радиочувствительных органов. Использование ЭПР-биомаркеров позволило обосновать дозы и режимы введения радиопротекторов для получения оптимальной радиозащиты.

Ключевые слова: метод ЭПР, γ -радиация, ДНК, дезоксирибонуклеотиды, внеклеточная ДНК, радиочувствительность организма, радиопротекторы

DOI: 10.31857/S0869803124050035, **EDN:** LNXEEV

Работа посвящена биофизическому анализу комплекса экспериментальных фактов о природе возрастания частоты генных мутаций из-за дисбаланса пулов dNTP в активно пролиферирующих тканях и выяснению физико-химических механизмов формирования естественной резистентности организма и способов ее повышения при действии различных ДНК-тропных агентов. В результате анализа собственных экспериментальных данных и эмпирического обобщения современных представлений о механизмах индуцированного мутагенеза, как возможной причине метаболично-физиологических защитных реакций организма, разработан системный подход в оценке стохастического характера возникновения повреждений важнейших систем жизнеобеспечения в условиях радиационного окислительного стресса (РОС). Методология системного анализа и использование физического метода ЭПР-спектроскопии позволили обосновать, в рамках нашей задачи, биодозиметрические оценки количественных закономерностей развития организменной SOS-реакции в ответ на γ -облучение.

Установлено наличие клеточного SOS-ответа системы *de novo* синтеза dNTP и скоростей реакций ДНК, РНК и белков на действие γ -радиации в широком диапазоне доз, а также роль изменений активности фермента рибонуклеотидредуктазы (RR), лежащих в основе дисбаланса пулов dNTP, инициирующих метаболическую генерацию повреждений ДНК в органах кроветворения [1, 2]. Основой междисциплинарных исследований стало определение временной фазной динамики изменений метаболического системного SOS-ответа: спектр биофизических, биохимических и сопряженных цитогенетических показателей, необходимых для выяснения регуляторной роли SOS-репарационных реакций повреждений ДНК, обеспечивающих стохастический характер выживания индивидуальных организмов в условиях экотопических воздействий различной природы и в условиях радиационного окислительного стресса [3–5]. Речь идет о выяснении закономерностей мультипараметрических SOS-реакций молекулярно-клеточных систем жизнеобеспечения и о понимании

механизмов репарации систем феногенетики при действии ДНК-тропных агентов на организм. Высказанные утверждения обращают наше внимание и почти однозначно определяют направления фундаментальных исследований в области взаимоотношений человека и биосферы, позволяют выбрать надежный путь познания Природы, глубоко проникать в суть процессов жизнеобеспечения в экстремальных условиях существования. На новом этапе накопления фундаментальных знаний открываются перспективы изучения природы и количественных интерпретаций физико-химических механизмов репарации лучевых повреждений и реализации замысла о возможностях их модификации и повышения жизнеспособности облученного организма.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ФЕНОТИПИЧЕСКИХ РАДИОГЕННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ

Точность копирования ДНК в процессах репликации и репарации определяется сбалансированным синтезом dNTP, который обеспечивает ключевой регуляторный компонент в цепи синтеза — тирозильный свободнорадикальный железосодержащий фермент рибонуклеотидредуктаза (RR), идентифицированный нами *ex vivo* методом ЭПР в тканях и органах животных [6, 7]. Анализ результатов свидетельствует о регулирующей роли изменения активности RR в уменьшении пулов четырех типов dNTP и в возникновении их дисбаланса в метаболической генерации повреждений ДНК в органах кроветворения в условиях РОС. Открытие энзиматической системы репарации ДНК во многом определило стратегически важное значение SOS-реакции молекулярно-клеточных систем в поддержании целостности генома, клеточной стабильности и организменного гомеостаза млекопитающих в условиях экопатогенных воздействий. Следует напомнить, что в исследованиях *in vitro* на изолированных тканевых и клеточных системах зарубежные авторы обращали внимание, что SOS-ответ связан с дисбалансом пулов dNTP, нарушением энзиматической системы синтеза и репарации ДНК, формированием оптимального уровня мутагенеза, гипермутаций, снижением качества SOS-репарации, нарушением макромолекулярной структуры ДНК, а также с появлением двойных разрывов и возможной гибелью клеточных систем в экстремальных условиях [8–11]. Обеспечение синхронности реакций гидролиза и ресинтеза нуклеотидов лежит в основе эффективной репарации брешей в

цепях ДНК, возникающих из-за влияния эндогенных спонтанных или экопатогенных факторов среды. Реализация первичного поражения и полноценная репарация метаболических брешей на фоне дисбаланса синтезов dNTP, ДНК и белков замедляется и нарушается в результате преобладания скорости гидролиза нуклеотидов, вследствие чего быстро развивается деградация ДНК, и возникает опасность для жизни клеток [12, 13]. Важно отметить, что методология наших исследований при изучении интегрального SOS-ответа ферментных систем целостного организма нацелена на анализ и рассмотрение *системного ответа*, связанного с нарушением баланса внутриклеточных синтезов ДНК, РНК, белков и dNTP, повышающих вероятность возникновения генных и структурных мутаций в условиях РОС. Биофизический подход открывает новые возможности наблюдения и анализа ранних и отдаленных метаболических реакций системы SOS-репарации ДНК, во многом определяющих эффекты радиогенных повреждений организма. Итак, в работе использовали комплекс методов (ЭПР, радиоизотопные, биохимические) и оценивали адаптивный SOS-ответ ферментных систем защиты на уровне целого организма по динамике радиационно-индуцированных молекулярно-генетических повреждений в тканях и органах при воздействии различных доз γ -излучения на организм. Быстрозамороженные образцы тканей и крови измеряли при 77K на радиоспектрометре ER-220D фирмы Bruker (Германия) с использованием стандартной методики накопления и анализа спектров на мини-ЭВМ Aspect-2000. Интенсивность сигнала ЭПР фермента RR, регистрируемого в органах кроветворения, пропорциональна его каталитической активности и изучена в динамике при действии на организм различных экзогенных генотоксикантов и разной мощности дозы ионизирующей радиации. Количественные ЭПР-измерения *ex vivo* уровня каталитической активности RR позволили анализировать динамические пострадиационные изменения синтеза dNTP в активно пролиферирующих тканях системы кроветворения (костный мозг, селезенка, тимус, печень). Одновременно методом ЭПР контролировали показатели, характеризующие энергетические, детоксицирующие, антиокислительные свойства крови, антирадикальную активность плазмы, изменения пулов Fe^{3+} -трансферрина (Fe^{3+} -ТФ) и Cu^{2+} -церулоплазмينا (Cu^{2+} -ЦП), уровней адреналина и метгемоглобина в крови. Биосинтетические реакции систем макромолекулярного синтеза оценивали в опытах с помощью радиоизотопных методов по временным

и дозозависимым пострadiационным изменениям интенсивности биосинтезов ДНК, РНК и белков. Биохимическими методами определяли изменения содержания эстрадиола и тестостерона в плазме, клеточную активность супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы, антиокислительную активность крови, уровень внеклеточной низкомолекулярной фракции ДНК в плазме ($_{\text{вкДНК}}$), ингибиторную активность α_2 -макроглобулина в крови мышей и собак [14–17].

СТРЕСС-АДАПТИВНОСТЬ И ИНДУЦИРОВАННЫЙ МУТАГЕНЕЗ В УСЛОВИЯХ SOS-РЕПАРАЦИИ ФЕНОТИПА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ОБЩЕГО γ -ОБЛУЧЕНИЯ

На этапе, катализируемом RR, обеспечивается сбалансированное поступление четырех типов dNTP (аденин, гуанин, тимин, цитозин) для репликации и репарации ДНК, от величины пулов которых и их соотношения зависят как точность копирования, так и скорость синтеза ДНК. В условиях дисбаланса синтеза предшественников нарушается структурная стабильность макромолекул ДНК, образуются метаболические бреши в цепях ДНК и возрастает «нагрузка» на ферментные системы репарации. Установлено, что SOS-ответ включает раннюю активацию систем синтеза dNTP, длительность которой не более 1 ч после воздействия повреждающего агента на организм. В течение первого часа после воздействия γ -излучения на животного, максимальная активация синтеза dNTP в тканях сопровождалась мощным повышением интенсивности синтезов РНК, ДНК и белков в радиочувствительных активно пролиферирующих клетках кроветворных органов. Увеличение числа транскрипционных факторов во время SOS-ответа приводит к активации трансляции и накоплению пула фермента RR, что обеспечивает повышенный синтез dNTP. Резкая активация биосинтеза РНК и одновременный рост активности RR однозначно свидетельствуют о стимулирующем эффекте и об интегральном повышении мощности систем синтезов ДНК, РНК и всего белоксинтезирующего аппарата. Основным стимулом для SOS-активации синтеза dNTP в условиях радиационного воздействия является необходимость экстренной репарации увеличенного объема радиационно-индуцированных повреждений ДНК.

В ответе клеточных систем на облучение, вслед за SOS-активацией синтезов РНК и возрастанием пулов dNTP следовала закономерная стадия инги-

бирования RR-активности и синтезов РНК, ДНК и белков. В рамках адаптивного SOS-каскада взаимозависимых реакций уменьшение RR-активности оказалось связано с зарегистрированным подавлением синтеза белков на 85% в органах облученных животных [16]. Показательно, что в период от 3–24 ч синтеза dNTP и ДНК в селезенке облученных мышей были подавлены на 40 и 80–85% от контроля соответственно. Последствия ингибирования и возникновения ошибок транскрипции и трансляции, при действии γ -радиации на организм, проходят с участием нарушенного соотношения (дисбаланс) пулов четырех типов dNTP. Комплекс факторов РОС, и особенно активных форм кислорода, определяют функциональную роль возникающих метаболических изменений, приводящих к увеличению суммарного выхода спонтанных мутаций и к появлению дефектов в молекуле ДНК [11–13]. Установлено, что регуляция активности RR осуществляется посредством синтеза *de novo* или деградации его субъединицы B2 — коротко живущего белка M2B, время жизни которого всего 3 ч. Дисфункция и деградация системы RR в условиях подавленного синтеза белков означает, что пул B2 и пул фермента RR не восстанавливаются, что и приводит к ингибированию синтеза ДНК. Вторая волна активации синтеза dNTP, ДНК и белков возникает и закономерно связана с развитием компенсаторно-восстановительных организменных реакций. Интенсивность реакций, направленных на репарацию клеточных структур, растет линейно с дозой облучения, вплоть до летальной, при которой возникает риск срыва защитной SOS-реакции из-за истощения биосинтетического и биоэнергетического потенциалов клеток [17, 18].

Количественная оценка динамики свободно-радикальной активности фермента RR в тканях кроветворной системы *ex vivo* позволила выстроить определенную цепочку логических заключений о значении возникающего дисбаланса нуклеотидов dNTP, служащих субстратами ДНК-полимераз, в механизмах индукции радиационного мутагенеза, перестроек и нарушений в системах SOS-репарации ДНК в экстремальных условиях организменного радиационного окислительного стресса. Очевидно, в механизме защитной SOS-реакции важная роль принадлежит интегральной оценке последствий дисбаланса пулов нуклеотидов и комплекса молекулярных гомеостатических реакций в системе обеспечивающих синтез ДНК, РНК и белков. Следует отметить, что, изучая динамику метаболических реакций с участием свободных радикалов и парамагнитных металлокомплексов в крови

и тканях животных, установили дозозависимый SOS-репарационный организменный ответ гомеостатических систем жизнеобеспечения облученного организма [14–19]. Комплекс данных ЭПР-исследований радикального фермента RR, изменения биосинтезов белка и ДНК радиоизотопными методами, биохимических показателей активности ряда ферментов в условиях действия ионизирующих излучений сопоставляли с результатами параллельного цитогенетического анализа крови в тех же экспериментальных моделях. Это и позволило адекватно судить о радиационно-индуцированных первичных поражениях ДНК, формировании и развитии мутационных процессов в пролиферирующих клетках, тканях и органах системы кроветворения млекопитающих. Биофизический подход позволил анализировать режимы возникновения индукции мутагенеза по характеру динамических изменений активности RR и изменению пулов плазменных белков Fe^{3+} -трансферрина (Fe^{3+} -ТФ) и Cu^{2+} -церулоплазмина (Cu^{2+} -ЦП), используемых в качестве метаболических маркеров SOS-ответа. Результаты экспериментов позволили заключить, что в неблагоприятной для организма SOS-ситуации следствием дисбалансного мутагенеза является индуцированная мутабельность генома, характеризующая увеличением частоты спонтанных мутаций, проявляющихся отдаленными эффектами в последующих поколениях клеток и снижением их жизнеспособности. Отметим, что последствия резкого и длительного по времени дисбаланса могут быть одним из начальных пусковых звеньев злокачественного перерождения клеток. Известно, что запрограммированное самоубийство клеток (апоптоз) в пролиферирующих тканях млекопитающих также связано с длительным и глубоким нарушением процессов репликации и репарации ДНК.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОФИЗИЧЕСКИХ ЭПР-БИОМАРКЕРОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ АДАПТАЦИОННЫХ SOS-РЕАКЦИЙ И СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ РАДИАЦИОННОГО ПОРАЖЕНИЯ ОРГАНИЗМА

Попытки методом ЭПР контролировать в опытах на организменном уровне режимы биосинтеза внутриклеточных предшественников синтеза ДНК обозначили новые задачи по выяснению роли первичных физико-химических механизмов в повреждающих и восстановительных реакциях синтеза ДНК, РНК и белков в условиях γ -облучения. Комплексный ЭПР- и цитогенетический анализ

лучевого поражения обеспечивает возможность раннего выявления радиогенных молекулярно-клеточных повреждений и позволяет судить о природе молекулярно-клеточных мишеней и механизмах радиогенных эффектов. В опытах радиозащиты организма результативно использовали концептуальную основу динамики цитогенетических реакций системы SOS-ответа для обеспечения способности перспективных радиопротекторов предотвращать развитие гиперформы компенсаторно-восстановительных реакций во время острого постлучевого синдрома [19].

Результаты наших опытов (на собаках) о динамике фазных временных изменений клеточных SOS-реакций, индуцированных облучением (в дозах от 0.25 до 16 Гр), свидетельствуют, что возрастание частоты генных мутаций и мутаций хромосом связаны и определяются механизмами возникающего дисбаланса нуклеотидов. Подтверждением функциональной роли RR в фенотипических мутациях является существование корреляционной связи между активностью этого свободнорадикального фермента и фазными изменениями в крови ряда ЭПР-спектроскопических показателей SOS-реакции организма и, в частности, пулов активных плазменных белков Fe^{3+} -трансферрина и Cu^{2+} -церулоплазмина.

Отметим, что в костном мозге, селезенке, тимусе синтез dNTP и ДНК зависит от колебания содержания железа в клетках, так как субъединица M2 рибонуклеотидредуктазы (Fe^{3+} -RR) содержит два иона железа. Обеспечение клеток ионами Fe^{3+} осуществляет железотранспортный белок плазмы крови Fe^{3+} -трансферрин. Механизм переноса ионов включает стадию образования комплекса Fe^{3+} -ТФ с его рецептором. Блокада рецепторов в ответ на облучение приводит к уменьшению пулов Fe^{3+} -ТФ в крови, в зависимости от дозы облучения, и к подавлению синтеза dNTP и ДНК, а также и железозависимых и железосодержащих белков, в том числе митохондриальных [20,21]. Другой важнейший многофункциональный белок плазмы Cu^{2+} -церулоплазмин окисляет ионы Fe^{2+} до Fe^{3+} и, благодаря этой феррооксидазной активности, способствует включению ионов железа в апо-трансферрин. Кроме того, этот транспортный белок обеспечивает клетки ионами Cu^{+} . К тому же Cu^{2+} -ЦП, обладая аминоксидазной активностью, регулирует концентрацию биогенных аминов, а также является основным антиоксидантом крови, благодаря его супероксиддисмутазной и пероксидазной активностям [22].

Изменения пулов плазменных белков в крови были использованы для контроля динамики синтезов ДНК, dNTP и белков в качестве маркеров, отражающих развитие системных фенотипических молекулярно-клеточных компенсаторно-восстановительных реакций. Совокупность биомаркеров позволила судить о временных и дозовых изменениях индивидуальных реакций при действии радиационных факторов на организм. Было обнаружено, что фазные изменения пулов Fe^{3+} -ТФ в крови облученных собак однотипны, и их волновая динамика совпадает при всех использованных дозах облучения (0.25–16.0 Гр). В условиях РОС стресс-индуцированный мутагенез управляется сложными механизмами регуляции, обеспечивающими сохранение целостности клеточной организации, предотвращение сбоев и контроль за возможными организменными повреждениями. Существует мнение, что эти закономерные динамические аспекты адаптивной способности жизнеобеспечения клеточных систем находятся под жестким контролем эволюционного отбора [23].

Для оценки методом ЭПР неспецифической компоненты резистентности, определяющей исходное состояние, эффективно использовали отношение $(\text{Fe}^{3+}\text{-ТФ}/\text{МетНб})_{\text{исх}}$, которое учитывает синтез dNTP, убыль железосодержащих белков и функционального гемоглобина в периферической крови. Для практически здоровых собак контрольной группы величины этого показателя были в пределах 0.9–1.6. Для собак в «активированном» состоянии (например, из-за стресса или приема лекарств) значение $(\text{Fe}^{3+}\text{-ТФ}/\text{МетНб})_{\text{исх}}$ было больше, а в «угнетенном» состоянии — меньше указанных значений. Комплексная оценка этих показателей у группы собак в экстремальных условиях опытов характеризовалась наибольшими отклонениями от исходного контроля. В ходе опытов на собаках были зарегистрированы максимальные значения пула Fe^{3+} -ТФ на 2-е и 6-е сутки от момента начала γ -облучения. Последующие колебательные повышения пулов Fe^{3+} -ТФ закономерно нами регистрировались с 10-х по 15-е, с 20-х по 27-е и с 45-х по 60-е сутки. Отметим, что компенсаторно-восстановительные реакции были менее интенсивными и растянутыми во времени. Одновременно в этих опытах регистрировали идентичную динамику и фазовую зависимость изменений пулов Cu^{2+} -ЦП и содержания метНб, супероксиддисмутазную активность, антипротеолитическую активность α_2 — макроглобулина. Интенсивность организменных интегральных реакций на разные дозы облучения оценивали по величине прироста пула Fe^{3+} -ТФ на

2-е (или на 6-е) сутки от его минимального значения, которое регистрировали через 9 ч после облучения, т.е. $\Delta I = I_{\text{макс}} - I_{\text{мин}}$. Было установлено, что величина ΔI линейно росла с увеличением дозы, вплоть до летальной. При дозах, превышающих летальную, увеличения ΔI не наблюдали. Полагаем, что в экстремальных условиях действия больших доз облучения, когда «гиперответ» переводит организм в состояние предельного «биохимического напряжения», и возникает срыв защитного потенциала реакций адаптации. Это неизбежно сопровождается истощением энергетических, синтетических, нейрогуморальных и иммунных резервов, вызывающих репродуктивную гибель клеток, приводящую к необратимым пострадиационным изменениям в организме [24].

Исследования ЭПР тканей и крови показали, что динамический характер реакций организма остается неизменным по своей фазовой картине и при облучении в малых дозах (0.25 и 0.5 Гр). Однако только в течение первых 10 суток от момента облучения регистрировалось повышение пулов Fe^{3+} -ТФ и Cu^{2+} -ЦП, адреналина и гемоглобина, активности СОД и глутатионпероксидазы, активности α_2 -макроглобулина в крови собак. Затем пул Fe^{3+} -ТФ уменьшался, и к 90-м суткам составлял 50% от исходного значения. Эти наблюдения подтверждают волновую динамику развития защитных реакций в условиях γ -облучения малыми дозами, а также свидетельствуют о динамическом регуляторном организменном SOS-ответе, отражающем единый характер репаративных процессов ДНК-систем и реакций клеточного обновления кроветворной ткани.

Анализ волновой динамики величин ЭПР-показателей свидетельствует о феномене биохимической адаптации к пролонгированному радиационному фону и отражает прагматический характер реакций цитогенетической индивидуальной радиорезистентности организма. Отметим, что ЭПР-биомаркеры характеризуют фенотипические реакции, обусловленные и связанные с дозой облучения, вплоть до низких доз. При этом накопление млекопитающими даже малой дозы облучения приводит к уменьшению пула Fe^{3+} -ТФ, что негативно отражается на процессах гемопоэза и эритропоэза и не может не сказаться на пролиферативной активности клеток [25, 26].

На основе пострадиационных индивидуальных изменений пулов Fe^{3+} -ТФ в крови подопытных собак в стандартном неспецифическом ответе на γ -облучение установлены следующие стадии адаптивного

характера процесса: 1) первая волна — SOS-повышение пулов и активности фермента RR, результатом которого является активация синтеза dNTP и ДНК; 2) последующее, в течение первых суток, уменьшение пулов плазмменных белков, ингибирование RR-активности, приводящее к подавлению железозависимых, в том числе митохондриальных энергетических процессов, и к ингибированию синтезов dNTP, ДНК, РНК и белков; 3) восстановление RR-активности и ключевых процессов компенсаторно-восстановительных реакций организма, что связано с интегральным повышением мощности систем железозависимых синтезов dNTP, ДНК и всего белок-синтезирующего аппарата. Итак, в течение первых суток после облучения за счет выраженного ингибирования свободнорадикальной активности RR и снижения синтеза предшественников ДНК (dNTP) усиливается первичное радиационно-индуцированное поражение: снижение эффективности репарации и критическое развитие дальнейших повреждений ДНК. Вторая волна — фаза интегральной восстановительной SOS-активации синтезов обеспечивает развитие компенсаторно-восстановительных реакций клеточных систем органов и тканей, направленных на репарацию клеточных структур, мобилизацию и восстановление адекватных метаболических реакций, обеспечивающих защиту организма. Анализ динамики ЭПР-показателей и интегративная их обусловленность в экспериментальных исследованиях позволяет судить об инициации резервных возможностей организменного SOS-ответа важнейших систем жизнеобеспечения в условиях РОС [25].

Становится очевидным, что *адекватная срочная репарация* ДНК имеет исключительное значение для поддержания надежности и устойчивости биологических систем при экстремальных воздействиях на организм. Однако столь же очевидно, что существующие сложные функциональные взаимоотношения между центральными регулирующими системами (нервная, иммунная, эндокринная, репродуктивная) и субклеточными энзиматическими системами (антиоксидантная и ДНК-репарирующая) в экстремальных условиях могут нарушаться, увеличивать радиационно-индуцированную нестабильность генома, повышать эндогенный мутагенный фон и перестраивать функциональное метаболическое состояние клеток, заметно изменяя их восприимчивость к стресс-фактору.

По сути, дисбалансная концепция мутагенеза позволила по-новому объяснить статистический

характер и метаболическую природу хромосомной нестабильности и мутагенного действия ионизирующего излучения (ИИ). Радиационно-индуцированные генные мутации и индуцированная нестабильность генома связаны и отражают адаптационные возможности клеточных систем в условиях изменения среды обитания организма. Не исключено, что в зависимости от выраженности (доза и длительность) воздействия ИИ на первом этапе происходит изменение уровня экспрессии генов без изменения первичной последовательности нуклеотидов и затрагивает в основном митохондриальную ДНК (мтДНК).

По нашим оценкам, дисбалансная концепция мутагенеза расширила круг вопросов о механизмах явлений SOS-адаптации и тесную их связь с радиационно-индуцированной нестабильностью генома (РИНГ), позволила по-новому объяснить стохастический характер возникновения фенотипических мутаций и прийти к выводу, что мутагенная репарация управляется сложными эволюционно наработанными механизмами регуляции и не оставляет сомнений относительно физико-химической природы этого процесса.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ МЕХАНИЗМОВ ИНДУКЦИИ СИНТЕЗА DNTTP И ДНК ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ РАДИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА В УСЛОВИЯХ ОБЩЕГО γ -ОБЛУЧЕНИЯ

Роль дисбаланса dNTP в генерации фенотипических мутационных повреждений ДНК и возникновении неспецифической адаптивной реакции клеточных систем на внешние воздействия достаточно очевидна. Анализ собственных результатов и научных идей, касающихся принципиально важной взаимосвязи фенотипических мутационных повреждений, с формированием резистентности организма к ДНК-повреждающим агентам во многом определил методологические подходы к задачам противорадиационной защиты. *Новый научный подход* к созданию противолучевых средств мы связываем с использованием концепции организменного системного SOS-ответа молекулярно-генетических систем в условиях радиогенного действия ионизирующего излучения. Именно поэтому актуально комплексно проанализировать регуляторную роль ферментных систем и стохастический характер происходящих в организме цитогенетических процессов, а также возникающую экспрессию определенных генов, связанных с разного типа репарацией разрывов ДНК и накоплением ле-

тальных повреждений типа хромосомных aberrаций. Полагаясь на непосредственный опыт собственных исследований и современные общепризнанные представления о мутационном процессе, важно выявить регуляторный характер интегральной молекулярно-клеточной SOS-реакции в поддержании адекватного режима функционирования генетических систем и подсистем клетки, фиксировать комплекс параллельных физиологических и метаболических системных реакций, обеспечивающих повышение резистентности организма в экстремальных условиях. При этом анализе метаболически обусловленных радиационно-индуцированных повреждений ДНК и попытке установления роли мутагенной формы репарации как адаптивного механизма антистрессовой реакции мы опирались на принципы и развитие концепции о дисбалансе пулов нуклеотидов, связанных с изменением скоростей и «качества» синтеза ДНК, РНК и других систем, управляющих равновесием фенотипа организма в соответствии с требованиями внутренней и внешней среды [27].

Действительно, результативность нашей концепции была проверена на моделях радиозащиты с использованием радиопротекторов различного класса, исходя из расшифровки природы динамического SOS-ответа и критических этапов лучевого поражения и с учетом закономерностей механизмов интерфазной гибели клеток. В качестве биомаркеров радиочувствительности для оценки степени эффективности радиопротекторов использовали свободнорадикальную активность RR (в опытах на мышах) и изменения пулов Fe^{3+} -ТФ и Cu^{2+} -ЦП в крови и содержания $_{BK}$ ДНК в плазме крови (в опытах на собаках). Изменения пулов позволяют надежно и количественно контролировать адаптивный характер активации определенных ферментных систем SOS-защиты организма, величину индивидуальных дозовых реакций организменного SOS-ответа, а также степень радиозащитного действия перспективных радиопротекторов.

Доклиническое изучение радиопротектора экстренного действия *индралина*, эффективного при остром облучении в смертельных дозах, и радиопротектора пролонгированного действия *индометопена*, эффективного в условиях длительного облучения с малой мощностью дозы, позволило прогностически обосновать использование механизмов молекулярно-клеточных процессов повышения общей неспецифической резистентности организма. Отметим, что выживаемость экспериментальных животных была больше, когда индралин вводили

внутримышечно за 10–15 мин до γ -облучения, а индометопен использовали пролонгированно и применяли за 5–7 сут до начала облучения. При таких режимах использования протекторов γ -облучение животных проводилось в условиях повышенной RR-активности в органах кроветворения. В селезенке мышей, защищенных индралином, RR-активность была в 1.5 раза, а в костном мозге – в 1.2 раза выше, чем у незащищенных. У защищенных индралином облученных мышей значение RR-активности было в 1.9 раза выше и оставалось в период от 6–24 ч. Высокий уровень синтеза dNTP в кроветворных органах животных во время облучения и в течение первых суток после облучения обеспечивал качественную и быструю репарацию повреждений ДНК, предотвращал образование новых повреждений, способствовал ослаблению ингибирующего действия радиации. Результатом этого было снижение хромосомных aberrаций в клетках костного мозга животных, повышение резистентности стволовых клеток костного мозга и селезенки с ФУД, равным 1.5–2.0. Установлено, что применение индометопена также активирует синтезы дезоксирибонуклеотидов (dNTP), ДНК и белков в органах животных, в том числе в костном мозге, селезенке и тимусе. Максимальная интенсивность синтеза dNTP была на 5–7-е сутки после введения индометопена и составляла на 5-е сутки – 2.30 ± 0.28 и на 6-е сутки – 2.69 ± 0.30 . Облучение защищенных индометопеном животных именно в эти сроки приводило к оптимальной защите по тесту выживаемости. Отметим, что увеличение скорости синтеза белков в органах мышей составляло 130–140% от контроля. Повышенный уровень биосинтеза белков сохранялся в течение длительного времени с нормализацией к 30-м суткам. Синтез ДНК в селезенке и печени также был стимулирован индометопеном, но не столь значительно по сравнению с радиопротектором экстренного действия индралином [17, 18].

Таким образом, в механизме действия индралина (α -адреномиметик) и индометопена (индольный аналог тамоксифена), имеющих различную химическую структуру, но обладающих высокой противолучевой активностью, важная роль принадлежит их способности индуцировать синтезы dNTP, ДНК и белков, необходимых для репарации повреждений ДНК и для ускоренного развития восстановительных реакций организма. По длительности и интенсивности стимулированного радиопротектором синтеза dNTP можно судить как о противолучевой эффективности препарата, так и об оптимальном времени его введения до облучения.

Именно на основе использования ЭПР-технологий удалось разработать рациональные унифицированные принципы отбора перспективных радиозащитных средств широкого назначения, обосновать дозы препаратов, установить режимы их введения для получения оптимальной защиты, основываясь в итоге, на показателях выживаемости животных и развитии восстановительных процессов в крови и органах. Исследования подтвердили, что радиопротекторы индралин и индометופן защищают синтез АТФ и гликогена в органах животных, повышают активность RR и обеспечивают индукцию синтеза dNTP в радиочувствительных органах [19]. Отметим, что эффективные (по тесту выживаемости животных) радиопротекторы вызывали максимальное повышение RR-активности в сроки, когда у незащищенных облученных животных она была подавлена на 40–50% от контроля. Очевидно, у защищенных радиопротектором животных повышение RR-активности создавало условия для поддержания высоких сбалансированных пулов dNTP во время облучения. Это обеспечивает репликативный синтез ДНК и его эффективную репарацию в костном мозге и в селезенке от повреждений. В итоге предотвращается образование новых радиационно-индуцированных повреждений ДНК и обеспечивается более раннее интенсивное развитие компенсаторно-восстановительных реакций.

На фоне примененного индралина высокий уровень синтеза dNTP в органах сохранялся только в первые часы после облучения, в то время как у незащищенных животных синтез dNTP он был существенно подавлен. Первичное раннее использование только одного индометोजना уже обеспечивало пролонгированное повышение радиорезистентности клеток и к моменту облучения, и в отдаленном пострadiационном периоде. Активируя пролонгированный синтез четырех типов dNTP, индометופן приводил к увеличению их пулов, что необходимо для *срочной репарации* радиационно-индуцированных повреждений ДНК и предотвращения образования гиперформы SOS-реакций и новых повреждений, обычно возникающих в органах незащищенных животных из-за низких концентраций dNTP и их дисбаланса. Показано, что индометופן-стимулированные репарационные биосинтезы ДНК и белков в органах животных ослабляют ингибирующий эффект облучения на биосинтезы макромолекул уже в первые 24 ч и обеспечивают более раннее и длительное интенсивное развитие компенсаторно-восстановительных реакций [26].

В результате исследований подтвердилось, что радиопротектор индометופן предназначен для снижения риска возникновения как непосредственных, так и отдаленных последствий действия на организм *несмертельных доз радиации*. Однократное введение индометोजना (перорально) повышает радиорезистентность животных на срок до двух недель без побочных эффектов. Это означает, что областью возможного использования индометोजना является защита персонала, работающего на радиационно-опасных объектах; защита лиц, профессиональная деятельность которых связана с использованием радиоактивных источников, а также защита населения (в особенности детей), проживающего на территориях с радиоактивным загрязнением. Таким образом, экспериментально доказано, что механизмы активации синтеза dNTP к моменту облучения и в критические сроки лучевого поражения могут быть использованы в опытах радиозащиты организма с помощью радиопротекторов. Радиопротекторы, активируя синтез ДНК, РНК и белков, обеспечивают защиту и полноценное их восстановление в раннем пострadiационном периоде. Эти эффекты имеют значение для поддержания жизнедеятельности клетки и определяют высокую выживаемость животных, облученных даже в смертельных дозах.

Использование ЭПР-биомаркеров в пострadiационном периоде позволило установить, что в облученном организме развиваются цитогенетические защитные неспецифические компенсаторно-восстановительные реакции, закономерно связанные с увеличением частоты мутаций. Увеличение количества мутаций, оцениваемое по изменениям метаболических показателей, линейно повышается с ростом дозы облучения, вплоть до летальной. Длительное сохранение состояния физиологического напряжения приводит к возможному истощению биосинтетических и биоэнергетических потенциалов. Необходимая в условиях облучения мобилизация мутагенеза регулируется одновременно на нескольких уровнях, чтобы обеспечить адаптивно-защитный характер SOS-ответа организма. Однако, в ряде случаев, несовершенная, неадекватная индивидуальная адаптация может окончиться срывом восстановительных реакций и гибелью живого организма. Совместное применение, по предложенной нами схеме, эффективных радиопротекторов индралина и индометोजना предотвращало развитие губительных повреждающих гиперреакций, которые обязательно возникают и регистрируются у незащищенных γ -облученных животных.

Подводя итоги, можно констатировать, что обоснована и предложена реальная перспективная схема радиозащиты при остром γ -облучении, в которой использовался комплекс модификаторов радиорезистентности. На этапе I использовался *индометофен*, повышающий на протяжении нескольких часов общую неспецифическую резистентность в группе животных. На этапе II (дополнительно, непосредственно перед острым γ -облучением) применялся радиопротектор экстренного действия, адrenomиметик *индралин*. В результате подбора режимов стресс-индуцированного мутагенеза смогли определить положительный результат: противолучевой эффект в опытах на собаках достигался введением половинной радиозащитной дозы препарата экстренного действия (индралин), что, несомненно, уменьшало токсические эффекты и накопление продуктов деградации ДНК в условиях острого γ -облучения [24, 26].

УСТАНОВЛЕНИЕ ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ У ДЕТЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ В РЕГИОНАХ РАДИОНУКЛИДНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

С 1995 по 2005 г. совместно с Детским научно-практическим центром противорадиационной защиты при ФГБУ «Московский НИИ педиатрии и детской хирургии» Минздравсоцразвития России проводили многократные ЭПР-обследования крови и плазмы у детей разного возраста, проживающих в районах с различной плотностью радиоактивного загрязнения, в основном за счет ^{137}Cs : зона I — 1–15 Кц/км², зона II — 15–45 Кц/км², зона III — 45–75 Кц/км². К настоящему времени обследовано и включено в анализ 253 ребенка, родившихся в семьях участников ликвидации последствий аварии на ЧАЭС и в регионах радионуклидного загрязнения. Группа сравнения (112 детей) подобрана по принципу «пара–копия» — дети и их родители не подвергались действию радиации.

Мониторинг состояния здоровья детей, подвергшихся радиационному воздействию в малых дозах, выявил экспериментальные возможности установления с помощью тестов молекулярного и клеточного уровня повышенной индивидуальной радиационной чувствительности в детской популяции [28–31]. Первичная реакция детского организма к изменившемуся радиационному фону на начальном этапе закономерно проявляется в повышении уровня Fe^{3+} -ТФ и Cu^{2+} -ЦП в крови и плазме, что функционально связано с активацией окислительных и энергетических реакций, обеспечивающих

адекватный контроль за скоростью-лимитирующей стадией в синтезе ДНК. При проведении пролонгированного динамического ЭПР-обследования было зарегистрировано сохранение фазового колебательного повышенного уровня содержания Fe^{3+} -ТФ и Cu^{2+} -ЦП в крови и плазме у детей, что обеспечивает активацию синтеза dNTP и ДНК, т.е. защиту и восстановление кроветворной и репродуктивной систем организма в ответ на действие малых доз облучения. У детей, проживающих в регионах с более высоким уровнем загрязнения радионуклидами, установлено закономерное устойчивое снижение интенсивности сигналов Fe^{3+} -ТФ и Cu^{2+} -ЦП в крови и плазме при сохранении характера динамики фазозависимых изменений клеточного метаболизма у облученных. Это свидетельствует о снижении включения ионов железа в апотрансферрин, об ухудшении антиоксидантных свойств крови и о подавлении синтеза dNTP из-за ингибирования свободнорадикальной активности RR, а также к ингибированию синтеза железосодержащих белков и ферментов. Исследования подтвердили, что нарушение работы ЦЭТ приводит к усилению продукции активных форм кислорода и развитию хронического и острого энергетического кризиса, возникающего на уровне целого организма [32–33]. В контексте адаптивной реакции организма повышенной чувствительности генетического аппарата проведенные параллельные цитогенетические исследования показали увеличение частоты аберраций хромосом, активацию соматического мутагенеза, накопление клеток с дисгеномными эффектами в детском организме. По структуре хромосомных аберраций выявлено увеличение количества делеций, инверсий, колец, изохроматидных и одиночных фрагментов и пробелов, полиплоидии. При этом у детей, проживающих в регионах радионуклидного загрязнения, уровень внеклеточной ДНК ($_{\text{вк}}$ ДНК) статистически значительно превышает таковой показатель в группе сравнения. Установлено, что в группе детей, подвергшихся облучению внутриутробно и рожденных в 1986–1987 гг. (1-е поколение), имеет место значительное повышение $_{\text{вк}}$ ДНК (7.87 ± 0.58 мкг/мл), а в группе сравнения — 4.53 ± 0.23 . Повышенный уровень $_{\text{вк}}$ ДНК и увеличение выхода в циркуляцию клеток — предикторов апоптоза (клетки с иммунотипом CD95+) характеризуют активность клеточного апоптоза в условиях действия малых доз и могут свидетельствовать о наличии склонности к новообразованиям [28]. Заслуживает внимания тот факт, что в популяции облученных детей на фоне изменчивости уровня мутагенеза установлено увеличение выхода мутаций $_{\text{мх}}$ ДНК по сравнению

со спонтанным уровнем этих нарушений. Существуют многочисленные свидетельства того, что окислительный стресс и мутации mхДНК снижают митохондриальный синтез АТФ. Возникает хорошо известная ситуация «порочного круга», когда снижение синтеза АТФ под влиянием указанных факторов приводит к снижению активности RR, нарушению баланса dNTP, что чревато снижением эффективности репарации и повышением мутаций в mхДНК , которые, в свою очередь, вызывают дальнейшее снижение синтеза АТФ и т.д. Эти результаты дают возможность считать роль ферментативной активности RR, зависящей от концентрации АТФ, реальным непосредственным фактором высокой частоты мутаций mхДНК в экстремальных условиях. Из этого следует, что с помощью комплекса ЭПР-биомаркеров радиочувствительности можно оценить в динамике регуляторные механизмы контроля и выявить детерминанты адаптивных цитогенетических SOS-реакций облученного организма детей в критические периоды их роста. Во многих рассмотренных случаях повышенная индуцированная нестабильность генома, мутации в соматических клетках, снижение эффективности репарации увеличивают риск развития молекулярно-геномных повреждений и увеличивают состояние дезадаптации детского организма. Результаты системного анализа указывают на регуляторное непостоянство генома, активную элиминацию «поломок» ДНК, высокую скорость процессов катаболизма, развитие фенотипа. Это связано с комплексной модификацией генной экспрессии, обуславливающей как потенциально обратимые изменения, так и возможное развитие экопатологии. При этом не вызывает сомнений, «вклад генома» можно по-настоящему оценить только в контексте взаимодействия организма со средой обитания (эпигеномика в действии) [34].

Отметим, что раннюю фазу организменных повреждений характеризует нейрогуморальная система адаптации к РОС, которая оценивалась исследованием методом ЭПР одного из гормонов-нейромедиаторов — адреналина. Уровень свободно-радикальной формы адреналина у детей из регионов радионуклидного загрязнения снижен, причем более значительно — у детей 2-го поколения. Кроме того, изменяется возрастная физиологическая динамика уровня адреналина. Так, с увеличением возраста у детей происходит не уменьшение, а увеличение значения показателя, что способствует нарастанию распространенности бронхиальной

астмы у детей поколения F1 у младших возрастных групп. Гормональный дисбаланс у детей поколений F0—F1 носит системный характер и реализуется также через тиреоидные (тиреотропные) и половые гормоны, которые имеют регуляцию через гипоталамо-гипофизарную систему, причем, с признаками дискордантности [35]. Таким образом, активность мутагенеза провоцируется как в результате прямого, так и косвенного воздействия на генетический аппарат, о чем свидетельствует повышение уровня хромосомных aberrаций на фоне сниженной репарационной способности ДНК. В этих реакциях важное значение имеют участие и роль баланса нуклеотидов, ключевым звеном восстановительных репарационных процессов которых является индукция рибонуклеотидредуктазы и формирование организменного SOS-ответа на метаболический РОС. Это подтверждается параллелизмом изменений (индукция или ингибирование) ключевого фермента RR, содержащего свободный радикал тирозинового аминокислотного остатка и характеризуется зарегистрированными закономерными нарушениями нуклеотидного обмена. Изменения соотношений уровня нуклеотидов и их метаболитов регистрируются чаще, чем в контрольной группе, и при этом, как правило, уровень вкДНК оказывается достоверно выше, чем в группе сравнения. В результате исследования установлено, что у пациентов группы наблюдения (101 человек) из поколений F0—F1, проживающих в регионах радионуклидного загрязнения почвы по цезию-137 более 1665 кБк/м^2 , изменение уровня нуклеотидов и их метаболитов регистрируется чаще, чем в группе сравнения (34 человека) — у лиц аналогичного возраста и пола, проживающих в радиационно чистых регионах. При этом, повышенный уровень нуклеотидов (пуриновых: гуанина, гуанозина, аденина, аденозина) в группе наблюдения по сравнению с группой сравнения отмечается чаще в 2 раза. У пациентов в поколении F1 (т.е. у детей, рожденных от родителей, облученных в детском и подростковом возрасте) уровень изменений оказался более выражен, чем у лиц поколения F0. В последние годы стало ясно, что нарушения обмена нуклеотидов связаны и способны привести к формированию патологических состояний и к «извращенному» течению обменных процессов в организме. Накапливаясь в больших количествах, пуриновые нуклеотиды индуцируют апоптоз клеток, в результате чего у детей из радиационно загрязненных регионов довольно часто имеет место активация процессов апоптоза. В то же время отметим, что в последую-

щем поколении F1 подобная зависимость не была подтверждена [36].

Существует необходимость в развитии и совершенствовании методологии изучения системных реакций организма в экстремальных условиях, приводящих к возникновению радиационно-индуцированных патологий. На этом пути могут быть получены результаты для выявления групп повышенного риска на основе изучения биофизических механизмов возникновения патогенных мутаций и новых научных молекулярно-клеточных критериев повреждений, приводящих «по факту» к пролиферативным заболеваниям и опухолевому росту. Логическую основу исследований составляет, в частности, будущее *посемейное изучение индивидуальных генотипических особенностей детских организмов* с использованием методов аналитического и математического анализа, установления фактов адекватных индивидуальных оценок вероятности наследуемости мультифакториальных заболеваний. Это потребует серьезного компьютерного мониторинга и позволит выявить главные звенья ведущих механизмов индуцибельной организменной SOS-репарации, обуславливающей реализацию радиационных стохастических неблагоприятных мутагенных эффектов. В экстремальных условиях существования организма важное значение приобретают методологические принципы анализа фактов и эпигенетических реалий с учетом как индивидуальной радиочувствительности, так и синергизма факторов экопатогенных воздействий. Все это определяет будущую научную постановку конкретной задачи и оценку непосредственных и отдаленных последствий радиоактивных загрязнений для людей и биоценозов [37].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Цикл наших исследований предполагает и высокотехнологичное продолжение, что и позволило, в рамках методологической концепции, обосновать биодозиметрические подходы анализа регуляции закономерностей организменной SOS-реакции клеток тканей и органов в ответ на γ -облучение. Фазные изменения ЭПР-показателей, их сопоставление с биохимическими и цитогенетическими характеристиками способствуют прогностическому пониманию и оценке роли стохастически возникающих ранних радиогенных повреждений, достигающих уровня необратимых, в условиях высоких доз γ -облучения. Аналитический обзор результатов наших многолетних биофизических исследований свидетельствует, что для объяснения механизмов

индуцированного мутационного процесса заслуживает внимания использование *методологии количественного системного анализа* ранних и отдаленных фенотипических радиогенных повреждений. Несомненным объективным результатом организменных SOS-ответов и последствиями дисбаланса пулов нуклеотидов являются факты возрастания частоты генных мутаций и мутаций хромосом при использовании малых доз радиации. Существование SOS-реакции при использовании малых доз было установлено и объяснено развитием клеточного митохондриального стресса и повышением на определенное время радиационной устойчивости клеток, что, по нашему мнению, имеет отношение к механизму адаптивного ответа. По величине SOS-ответа и последующей динамике адаптивных молекулярно-клеточных реакций можно судить о силе действующих стресс-агентов различной природы и, в соответствии с задачами радиозащиты, применяя модификаторы и протекторы, влиять на SOS-реакцию. Предлагаемая концепция требует дальнейшего анализа и конкретного наполнения динамического SOS-ответа количественными показателями внутриклеточных сдвигов энергетического метаболизма и систем репарации mH ДНК, классификации «качества» процессов суммарного репаративного синтеза ДНК, новыми системными (по значению) молекулярными критериями радиационных повреждений и совокупных индивидуальных гомеостатических реакций фенотипа в экстремальных условиях. Внутри общей детской популяции, проживающей в загрязненных радионуклидами регионах, «запускаются» защитные эпигенетические программы, адекватным образом «работающие» у более радиорезистентных индивидов. Эта устойчивость к радиогенному стрессу не есть результат отсутствия генетически обусловленной нестабильности генома, но она отражает эффективное влияние эпигенетических механизмов, включающихся для противостояния хроническому облучению малыми дозами. Сложная комплексная проблема ранней диагностики стохастических радиационных эффектов и возникающих онкозаболеваний очевидна. По современным представлениям, это может проявляться в виде адаптивного ответа или индуцированной радиорезистентности после действия малых доз ионизирующего излучения. Повидимому, частоты разных мутаций в разных жизненных испытаниях могут сильно различаться в зависимости от величины радиационной нагрузки на организм. Для разработки стратегии поиска необходима как количественная оценка интегрального адаптивного SOS-ответа, так и возмож-

ность использовать со стохастических позиций определяющую роль механизмов стресс-индуцированных изменений свободнорадикальной активности RR, лежащих в основе дисбаланса пулов dNTP, инициирующих метаболическую генерацию мутационных повреждений ДНК в органах кроветворения облученных млекопитающих. Дополнительность и логика обоих подходов позволяют (по динамике комплекса молекулярных цитогенетических показателей радиочувствительности) пытаться выделять группы высокого риска у облученных разными дозами и устанавливать возможность стохастического развития радиационной экопатологии и синергизма экопатогенных воздействий [38].

На новом этапе накопления фундаментальных знаний эмпирическое обобщение результатов опытных данных позволяет заключить, что характер и динамические аспекты адаптационных реакций молекулярно-клеточных систем находятся под жестким контролем эволюционного отбора, направленного против дестабилизации генома. Благодаря эволюционному фактору сохраняются, в той или иной степени, целостность клеточной организации и контроль за возможными начальными молекулярными патогенетическими повреждениями в экстремальных условиях существования организма. Согласно современным концепциям, в условиях Земли существует влияние разнообразных экопатогенных факторов, на которые реализуется адаптивная стратегия и *базисный универсальный механизм SOS-ответа живых систем*, сформировавшийся как целесообразная природная реальность у млекопитающих в результате эволюционного развития. Именно мобилизацией природного компенсаторного цитогенетического механизма обусловлено адекватное увеличение вероятности уровня мутаций и эффективная репарация лучевых SOS-повреждений ДНК, обеспечивающих *благоприятный стохастический результат жизнеобеспечения в экстремальных условиях* [23].

Использование современной методологии и результатов выбора комплекса биофизических методик для системного анализа организменного стресса во многом определяют новое понимание индуцированного мутагенеза и возможных его негативных последствий. Основная идея состоит в определении характера результатов мутагенной репарации с параллельной регистрацией и оценкой роли адаптивной нестабильности генома, экспрессии отдельных конкретных генов, контроля мобилизации экзогенных факторов метилирования ДНК и

изменений индукции микро-РНК. В частности, имеет значение элемент статистического подхода к анализу биофизических молекулярно-клеточных механизмов регуляторных SOS-систем репарации, обеспечивающих динамику адаптивного «антиоксидантного статуса» организма и адекватную экстремальным условиям системную устойчивость иммунологического статуса; фактов нарушения регуляции интегрального нуклеотидного обмена и наличия показателей функционального патогенного сдвига к апоптозу (уровень BK-ДНК) у поврежденных клеток организма [37].

Именно эти механизмы цитогенетических SOS-реакций для ретроспективной оценки организменных дозовых реакций на γ -облучение реально связаны с методологическими принципами современной биофизики и эмпирическим обобщением и выяснением адаптационных возможностей организма в результате восстановления повреждений ДНК, индуцированных радиацией в клетках и в их генетических структурах. В рамках развития проблемы физико-химических механизмов индуцированных мутаций обосновано использование комплекса цитогенетических технологий и специальных ЭПР-биомаркеров, допускающих раннюю экспресс-диагностику возникающих радиогенных повреждений метаболизма у детей, облученных в результате аварии на ЧАЭС. В целом обзор одного из сценариев SOS-репарации при действии малых доз радиации на детский организм и взятые в совокупности многолетние фенотипические наблюдения убеждают, что стресс-индуцированный мутагенез может быть *адаптивным механизмом антистрессовой реакции*, а не просто «сбоем в работе восстановительных систем», и способствует выживанию, увеличивая общую частоту мутаций и повышая тем самым вероятность адаптации. По существу, концепция в области методологии цитогенетики и геномики, а также факты об особенностях формирования системного SOS-ответа организма на ДНК-тропные агенты представляют новые научно обоснованные цели для анализа физико-химических механизмов возникающих пороков развития и болезней у облученных детей. В результате будущее использование методологии комплексного изучения организменной цитогенетической SOS-реакции на экстремальные факторы внешней среды перспективно связано с реализацией объективного количественного биофизического анализа эволюционных молекулярных явлений, реализующих интегрированную функцию специфических задач для выживания организма человека и животных.

Системный интегральный анализ адаптивных ответных SOS-реакций энергетических, белоксинтезирующих, антиоксидантных, антирадикальных и, одновременно, молекулярных систем геномного плана расширяет границы доступного опытного знания — «природы внутренней связи» — и поиска клинически значимых тестов возможных ранних повреждений организма при действии общего облучения. Однако полной и объективной количественной оценке анализ механизмов жизнеспособности открытых динамических биологических систем на уровне организма трудно поддается. Можно согласиться с мнением Нобелевского лауреата Эрвина Шредингера: «...недостаточно исследовать только то, что может быть измерено». Но как не согласиться с мнением и другого Нобелевского лауреата, физика Ричарда Фейнмана: «Мы просто обязаны, мы вынуждены распространять все то, что мы уже знаем, на как можно более широкие области, выходить за пределы уже достигнутого... Опасно? Да. Ненадежно? Да. Но ведь это единственный путь прогресса. Хотя этот путь неясен, только на нем наука оказывается плодотворной. Ведь наука приносит пользу только тогда, когда говорит вам о еще непоставленных экспериментах. Она никому не нужна, если позволит судить лишь о том, что известно из опыта, что только что произошло. Поэтому всегда необходимо распространять идеи за рамки того, на чем они уже опробованы» [38, 39].

Надо признать, что определенно не лишен дара научной дерзости и величайший естествоиспытатель XX века Н.В. Тимофеев-Ресовский, заявивший в своих лекциях о теоретических обобщениях с точки зрения новых современных биологических концепций: «Из-за отсутствия у биологов, особенно у прикладных, серьезного понимания методологии и методики применения математической статистики, огромное количество опытов неправильно планируется с самого начала в смысле расчета объема опытов и затрат сил... Большинство биологов исходят из неправильных, несовременных общих концепций, которые могут и определяют выбор и характер материала, подлежащего обработке. И в результате объем получаемой информации обычно снижается в несколько раз» [40].

Методологические принципы современной биофизики открыли возможности дальнейшей проверки гипотезы функциональной концепции мутагенеза на основе количественного анализа комплекса взаимосвязанных, ранних и отдаленных, фенотипических радиогенных повреждений. Определенно

заслуживают внимания эмпирические обобщения, создающие современное миропонимание роли систем, управляющих равновесием организма и обеспечивающих его жизнеспособность. Ясно, что закономерные динамические аспекты клеточных систем находятся под жестким контролем эволюционного отбора, направленного против дестабилизации генома. При этом сохраняется целостность клеточной организации, обеспечивается предотвращение сбоев и контроль за возможными повреждениями организма в экстремальных условиях существования. Результаты работы свидетельствуют о необходимости методологически обоснованного научного контроля биофизико-генетических механизмов для анализа и понимания сути фенотипических молекулярно-клеточных характеристик и, в том числе, интерпретации и возможного повышения эффективности индуцированных SOS-реакций систем репарации ДНК в условиях действия экофакторов различной природы на организм животных и человека.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена за счет субсидии, выделенной ФИЦ ХФ РАН на выполнение государственного задания, тема 0082-2014-0001 «Изучение принципов структурно-функциональной организации биомолекулярных систем, разработка методов дизайна их физико-химических аналогов и создания на этой основе биологически активных препаратов нового поколения», №AAAA-A17-117040610310-6.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пулатова М.К., Авакян М.А., Шарыгин В.Л. Идентификация сигнала ЭПР рибонуклеотидредуктазы в животных тканях с высокой пролиферативной активностью. *Биофизика*. 1986;31(2):340–342. [Pulatova M.K., Avakjan M.A., Sharygin V.L. Identifikacija signala JePR ribonukleotidreduktazy v zhiivotnyh tkanjah s vysokoj proliferativnoj aktivnost'ju. *Biofizika*. 1986;31(2):340–342. (In Russ.)]
2. Pulatova M.K., Sharygin V.L., Filatov D.E., Todorov I.N. ESR studies of the role of ribonucleotide reductase in DNA synthesis regulation during normal and pathological processes in animal tissues. *Highlights of Modern Biochemistry*. Eds. Kotyk A., Skoda I., Paces V., Kostka V. VSP Int. Sci. Publishers, Zeist., 1989. P. 215–229.
3. Пулатова М.К., Шарыгин В.Л., Филатов Д.Э., Тодоров И.Н. Активация рибонуклеотидредуктазы как показатель SOS-реакции на воздействие экстремальных факторов, повреждающий ДНК в клетках высших животных. *Докл. РАН*. 1995;340(1):123–127. [Pulatova M.K., Sharygin V.L., Filatov D.E., Todorov I.N. Aktivacija ribonukleotidreduktazy kak pokazatel' SOS-reakcii na vozdejstvie jekstremal'nyh

- faktorov, povrezhdajushhiy DNK v kletkah vysshih zhivotnyh. *Dokl. RAN*. 1995;340(1):123–127. (In Russ.)]
4. Pulatova M.K., Sharygin V.L. Free radical reactions in mechanisms of damage, repair and protection of blood systems. Free Radicals in Biology and Environment. NATO ASI Series. Ser.A. Life Science. Ed. F. Minisci. Dordrecht, Netherlands: Kluwer. Acad. Publ., 1997. V. 27. P. 305–315.
 5. Pulatova M.K., Sharygin V.L., Todorov I.N. The activation of ribonucleotide reductase in animal organs as the cellular response against the treatment with DNA damaging factors and the influence of radioprotectors on this effect. *Biochim. Biophys. Acta*. 1999;1453(3):321–329.
 6. Шарыгин В.Л., Пулатова М.К., Шлякова Т.Г., Митрохин Ю.И., Тодоров И.Н. Активация радиопротекторами и антиоксидантами синтеза дезоксирибонуклеотидов как важнейшая стадия в механизме формирования резистентности организма к действию ДНК-повреждающих факторов. *Изв. РАН. Сер. биол.* 2005(4):401–422. [Sharygin V.L., Pulatova M.K., Shljakova T.G., Mitrohin Ju.I., Todorov I.N. Aktivacija radioprotektorami i antioksidantami sinteza dezoksiribonukleotidov kak vazhnejshaja stadija v mehanizme formirovanija rezistentnosti organizma k dejstvu DNK-povrezhdajushhih faktorov. *Izv. RAN. Ser. biol.* 2005(4):401–422. (In Russ.)]
 7. Сипягина А.Е., Пулатова М.К., Шарыгин В.Л., Сусков И.И. Критерии повышенной чувствительности к малым дозам ионизирующего излучения и ее значение в формировании адаптивных процессов у детей. Здоровье детей и радиация: Актуальные проблемы и решения. Под ред. Л.С. Балевой и А.Д. Царегородцева. Вып. 2. М., 2006. С. 149–160. [Sipjagina A.E., Pulatova M.K., Sharygin V.L., Suskov I.I. Kriterii povyshennoj chuvstvitel'nosti k malym dozam ionizirujushhego izlucheniya i ejo znachenie v formirovanii adaptivnyh processov u detej. *Zdorov'e detej i radiacija: aktual'nye problemy i reshenija*. Pod red. L.S. Balevoj i A.D. Caregorodceva. Vyp. 2. M., 2006. S. 149–160. (In Russ.)]
 8. Snyder R.D. The role of deoxynucleoside triphosphate pools in the inhibition of DNA excision repair and replication in human cells by hydroxyurea. *Mutat. Res.* 1984;131(3–4):163.
 9. Cory J.G., Carter G.L. Drug action on ribonucleotide reductase. *Advances in Enzyme Regulation*. Ed. G.N.Y. Werber. London: Pergamon Press, 1986. V. 24. P. 385–401.
 10. Elledge S.J., Davis R.W. DNA damage induction of ribonucleotide reductase. *Mol. Cell. Biol.* 1989;9(11):4932.
 11. Genetic Consequences of Nucleotide Poolimbalance. Ed. F.S. De Serres. N.Y.: Plenum Press, 1985. 512 p.
 12. Meuth M. The molecular basis of mutations iduced by deoxynucleoside triphosphate pool imbalances in mammalian cells. *Experim. Cell. Res.* 1989;181(2):305–316.
 13. Nordlund P. and Reichard P. Ribonucleotides Reductases. *Annu. Rev. Biochem.* 2006;75:681–706.
 14. Шарыгин В.Л., Пулатова М.К., Шлякова Т.Г., Тодоров И.Н. Временные и дозозависимые пострадиационные изменения в содержании Fe³⁺-трансферина и Cu²⁺-церулоплазмينا в крови животных и их влияние на RR-активность тканей. *Радиац. биология. Радиоэкология*. 2003;43(6):662–667. [Sharygin V.L., Pulatova M.K., Shljakova T.G., Todorov I.N. Vremennye i dozozavisimye postradiacionnye izmeneniy v sodержanii Fe³⁺-transferrina i Cu²⁺-ceruloplazmina v krovi zhivotnyh i ih vliyaniye na RR-aktivnost' tkaney. *Radiac. biologiya. Radiojekologiya*. 2003;43(6):662–667. (In Russ.)]
 15. Пулатова М.К., Шарыгин В.Л., Шлякова Т.Г. Реакции системы синтеза дезоксирибонуклеотидов на облучение и их модификация радиопротекторами. *Радиац. биология. Радиоэкология*. 2003;43(1): 29–43. [Pulatova M.K., Sharygin V.L., Shljakova T.G. Reakcii sistemy sinteza dezoksiribonukleotidov na oblucheniye i ih modifikaciya radioprotektorami. *Radiac. biologiya. Radiojekologiya*. 2003;43(1): 29–43. (In Russ.)]
 16. Шарыгин В.Л., Пулатова М.К., Шлякова Т.Г. и др. Активация радиопротекторами и антиоксидантами синтеза дезоксирибонуклеотидов, как важнейшая стадия в механизме формирования резистентности организма к действию ДНК-повреждающих факторов. *Изв. РАН. Сер. Биол.* 2005(4): 401–422. [Sharygin V.L., Pulatova M.K., Shljakova T.G. et al. Aktivacija radioprotektorami i antioksidantami sinteza dezoksiribonukleotidov kak vazhnejshaja stadija v mehanizme formirovanija rezistentnosti organizma k dejstvu DNK-povrezhdajushhih faktorov. *Izv. RAN. Ser. Biol.* 2005(4): 401–422. (In Russ.)]
 17. Шарыгин В.Л., Пулатова М.К., Шлякова Т.Г. и др. Радиоспектроскопия ЭПР как метод регистрации изменений радиорезистентности организма. Экспериментальное обоснование. *Биофизика*. 2009;54(2):311–322. [Sharygin V.L., Pulatova M.K., Shljakova T.G. et al. Radiospektroskopija JePR kak metod registracii izmenenija radiorezistentnosti organizma. *Jeksperimental'noe obosnovanie. Biofizika*. 2009;54(2):311–322. (In Russ.)]
 18. Пулатова М.К., Шарыгин В.Л., Шлякова Т.Г. и др. Радиоспектроскопия ЭПР как метод регистрации изменения радиорезистентности организма. Клиническое обоснование. *Биофизика*. 2009;54(2):323–333. [Pulatova M.K., Sharygin V.L., Shljakova T.G. et al. Radiospektroskopija JePR kak metod registracii izmenenija radiorezistentnosti organizma. *Klinicheskoe obosnovanie. Biofizika*. 2009;54(2):323–333. (In Russ.)]
 19. Шлякова Т.Г., Шарыгин В.Л., Зорин В.В., Чернов Г.А., Пулатова М.К. Влияние индометовфена на противолучевые свойства индралина. *Радиац. биология. Радиоэкология*. 2014;54(1):50–56. [Shljakova T.G., Sharygin V.L., Zorin V.V., Chernov G.A., Pulatova M.K. Vlijanie indometofena na protivoluchevye svojstva indralina. *Radiacionnaya biologiya. Radiojekologiya*. 2014;54(1):50–56. (In Russ.)]
 20. Rampazzo C., Ferraro P., Reichard P. Mitochondrial deoxyribonucleotides, pool sizes, synthesis, and regulation. *J. Biol. Chem.* 2004;279:17–19.
 21. Crichton R.R. Proteins of iron storage and transport. *Adv. Protein. Chem.* 1990;40:281.
 22. de Jong G., van Dijk J.P., van Eijk H.G. The biology of transferrine. *Clin. Chim. Acta*. 1990;190(1–2:1).
 23. Кунин Е.В. Логика случая. О природе и происхождении биологической эволюции. Пер. с англ. М.: ЗАО Изд-во Центрполиграф, 2014. 527 с. [Kunin E.V. Logika sluchaya. O prirode i proishozhdenii biologicheskoy jevoljucii / Per. s angl. M.: ZAO Izdatel'stvo Centrpoligraf, 2014. 527 p. (In Russ.)]
 24. Шарыгин В.Л., Сипягина А.Е., Балева Л.С. и др. Опыт использования магниторезонансной спектро-

- скопии при системном анализе радиочувствительности/радиорезистентности животных и человека. Динамика химических и биологических процессов, XXI век. М.: Книга по Требованию, 2012. С. 413–441. [Sharygin V.L., Sipjagina A.E., Baleva L.S. et al. Opyt ispol'zovaniya magnitorezonansnoy spektroskopii pri sistemnom analize radiochuvstvitel'nosti/radiorezistentnosti zhivotnyh i cheloveka. Dinamika himicheskikh i biologicheskikh processov, XXI vek. M.: Kniga po Trebovaniyu, 2012. P. 413–441. (In Russ.)]
25. Шарыгин В.Л., Пулатова М.К., Сипягина А.Е., Балева Л.С. Использование магниторезонансной спектроскопии при системном анализе радиочувствительности/радиорезистентности животных и человека. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2013;53(2):151–169. [Sharygin V.L., Pulatova M.K., Sipjagina A.E., Baleva L.S. Ispol'zovanie magnitorezonansnoy spektroskopii pri sistemnom analize radiochuvstvitel'nosti/radiorezistentnosti zhivotnyh i cheloveka. *Radiac. biologiya. Radiojekologiya*. 2013;53(2):151–169. (In Russ.)]
 26. Шлякова Т.Г., Шарыгин В.Л., Зорин В.В., Чернов Г.А., Пулатова М.К. Влияние индометована на противовоспалительные свойства индралина. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2014. Т. 54. № 1. С. 50–56. [Shljakova T.G., Sharygin V.L., Zorin V.V., Chernov G.A., Pulatova M.K. Vlijanie indometofena na protivovuspalitel'nye svoystva indralina. *Radiacionnaya biologiya. Radiojekologiya*. 2014; 54(1):50–56. (In Russ.)]
 27. Тодоров И.Н. Роль оксидативного стресса и мутаций митохондриальной ДНК в процессе старения, прогрессии патологий и апоптоза. *Рос. хим. журн.* Менделеевского об-ва. 2007;LI(1):93–106. [Todorov I.N. Rol' oksidativnogo stressa i mutacij mitohondrial'noj DNK v processe starenija, progressii patologij i apoptoza. *Ros. khim. zhurn.* Mendeleevskogo ob-va. 2007;LI(1):93–106. (In Russ.)]
 28. Сипягина А.Е., Пулатова М.К., Шарыгин В.Л., Сусков И.И. Критерии повышенной чувствительности к малым дозам ионизирующего излучения и ее значение в формировании адаптивных процессов у детей. Здоровье детей и радиация: Актуальные проблемы и решения. Под ред. Л.С. Балевой и А.Д. Царегородцева. Вып. 2. М., 2006. С. 149–160. [Sipjagina A.E., Pulatova M.K., Sharygin V.L., Suskov I.I. Kriterii povyshennoj chuvstvitel'nosti k malym dozam ionizirujushhego izlucheniya i eyo znachenie v formirovanii adaptivnyh processov u detey. Zdorov'e detej i radiacija: aktual'nye problemy i reshenija. Pod red. L.S. Balevoy i A.D. Caregorodceva. Vyp. 2. M., 2006. P. 149–160. (In Russ.)]
 29. Сипягина А.Е., Балева Л.С., Пулатова М.К., Шарыгин В.Л. и др. Организация медицинской помощи детям различных когорт наблюдения, подвергшимся воздействию малых доз радиации. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2006;46(3):374–380. [Sipjagina A.E., Baleva L.S., Pulatova M.K., Sharygin V.L. i dr. Organizacija medicinskoj pomoshhi detjam razlichnyh kogort nabljudeniya, podvergshimsja vozdeystviyu malyh doz radiacii. *Radiac. biologiya. Radiojekologiya*. 2006;46(3):374–380. (In Russ.)]
 30. Сусков И.И., Кузмина Н.С., Сускова В.С. и др. Проблема индуцированной геномной нестабильности как основы повышенной заболеваемости у детей, подвергающихся низкоинтенсивному воздействию радиации в малых дозах. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2006;46(2):167–177. [Suskov I.I., Kuz'mina N.S., Suskova V.S. et al. Problema inducirovannoy genomnoy nestabil'nosti kak osnovy povyshennoy zabolevaemosti u detey, podvergajushhihsya nizkointensivnomu vozdeystviyu radiacii v malyh dozah. *Radiac. biologiya. Radiojekologiya*. 2006;46(2):167–177.. (In Russ.)]
 31. Сипягина А.Е., Балева Л.С., Шарыгин В.Л., Пулатова М.К. Возможности использования метаболических показателей для альтернативной биологической дозиметрии у детей, подвергшихся действию малых доз ионизирующего излучения. Медицинские радиологические последствия Чернобыля: Прогноз и фактические данные спустя 30 лет: Сборник тезисов международной научно-практической конференции. Обнинск, 17–19 мая 2016 г. С. 131–132. <http://www.radiation-and-risk.com/abstracts.pdf> (Accessed 17 May 2016). [Sipjagina A.E., Baleva L.S., Sharygin V.L., Pulatova M.K. Vozmozhnosti ispol'zovaniya metabolicheskikh pokazateley dlja al'ternativnoy biologicheskoy dozimetrii u detey, podvergshihhsya deystviyu malyh doz ionizirujushhego izlucheniya. Medicinskie radiologicheskie posledstviya Chernobylya: Prognoz i fakticheskie dannye spustja 30 let: Sbornik tezi-sov mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii. Obninsk, 17–19 maya 2016 g. S. 131–132. <http://www.radiation-and-risk.com/abstracts.pdf> (Accessed 17 May 2016). (In Russ.)]
 32. Шарыгин В.Л., Пулатова М.К. ЭПР-спектроскопия при системном анализе радиорезистентности организма животных и человека. Чернобыльский аспект. Сб. трудов XXII ежегодной конф. ИХФ им. Н.Н. Семенова РАН, секция «Динамика химических и биологических процессов». М.: РУДН, 2017. С. 71–81. [Sharygin V.L., Pulatova M.K. JePR-spektroskopija pri sistemnom analize radiorezistentnosti organizma zhivotnyh i cheloveka. Chernobyl'skij aspekt. Sb. trudov XXII ezhegodnoj konferencii IHF im. N.N. Semjonova RAN, sekcija «Dinamika himicheskikh i biologicheskikh processov». M.: RUDN, 2017. S. 71–81. (In Russ.)]
 33. Сипягина А.Е., Балева Л.С., Карахан Н.М., Яблонская М.И., Шарыгин В.Л. Характеристика и роль изменения нуклеотидов в I–II поколениях детей, проживающих в загрязненных радионуклидами регионах. Экологическая, промышленная и энергетическая безопасность – 2017, 11–15 сентября 2017 г. Под ред. Ю.А. Омельчук, Н.В. Лямина, Г.В. Кучерик. Севастополь: СевГУ, 2017. 1617 с. С. 1229–1233. [Sipjagina A.E., Baleva L.S., Karahan N.M., Jablonskaja M.I., Sharygin V.L. Harakteristika i rol' izmeneniya nukleotidov v I–II pokoleniyah detey prozhivajushhih v zagraznennyh radionuklidami regionah. Jekologicheskaya, promyshlennaya i jenergeticheskaya bezopasnost' – 2017, 11–15 sentjabrja 2017 g. Pod red. Ju.A. Omel'chuk, N.V. Ljaminov, G.V. Kucherik. Sevastopol': SevGU, 2017. P. 1229–1233. (In Russ.)]
 34. Сипягина А.Е., Малышев В.С., Балева Л.С., Карахан Н.М., Якушева Е.Н., Шарыгин В.Л. Роль радиационного фактора в формировании и изменении течения аллергических заболеваний (бронхиальной астмы) в поколениях пациентов после аварии на ЧАЭС. Экологическая, промышленная и энергетическая безопасность–2021: Сб. статей по материалам международной научно-практической конференции «Экологическая, промышленная

- и энергетическая безопасность—2021». Под ред. Л.И. Лукиной, Н.А. Бежина, Н.В. Ляминой. Севастополь: Сев.ГУ, 2021. 680с. С. 573–578. УДК 6-61.616-003/004 [Sipjagina A.E., Malyshev V.S., Baleva L.S., Karahan N.M., Jakusheva E.N., Sharygin V.L. Rol' radiacionnogo faktora v formirovanii i izmenenii techeniya allergicheskikh zabolevaniy (bronhial'noy astmy) v pokoleniyah pacientov posle avarii na ChAJeS. Jekologicheskaya, promyshlennaya i jenergeticheskaya bezopasnost'—2021: Sb. statey po materialam mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferencii «Jekologicheskaya, promyshlennaya i jenergeticheskaya bezopasnost'—2021». Pod red. L.I. Lukinoy, N.A. Bez-zhina, N.V. Lyaminoy. Sevastopol': Sev.GU, 2021. 680s. S. 573–578. (In Russ.)]
35. Сипягина А.Е., Балева Л.С., Карахан Н.М., Яблонская М.И., Шарыгин В.Л. Характеристика цитогенетических изменений в поколениях F0–F1, проживающих в загрязненных радионуклидами регионах. Characteristic of cytogenetic's changes in F0–F1 abitants generations in radiation-polluted regions. SCIENTIFIC. 2021;(53):3–6. ISSN 3041-4245.
36. Тодоров И.Н., Тодоров Г.И. Мультифакторная природа высокой частоты мутаций МТДНК соматических клеток млекопитающих. *Биохимия*. 2009;74(9):1184–1194. [Todorov I.N., Todorov G.I. Mul'tifaktornaja priroda vysokoj chastoty mutacij MTDNK somaticheskikh kletok mlekopitajushhih. *Biohimiya*. 2009;74(9):1184–1194. (In Russ.)]
37. Шарыгин В.Л. Методология использования спектроскопии ЭПР в анализе физико-химических механизмов радиогенных повреждений организма животных и человека. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2021;61(2):117–132. [Sharygin V.L. Metodologiya ispol'zovaniya spektroskopii JePR v analize fiziko-himicheskikh mehanizmov radiogennyh povrezhdeniy organizma zhivotnyh i cheloveka. *Radiacionnaya biologiya. Radiojekologiya*. 2021;61(2):117–132. (In Russ.)]
38. Свердлов Е.Д. Взгляд на жизнь через окно генома. В 3-х т. Т.1: Очерки структурной молекулярной генетики. М.: Наука, 2009. [Sverdlov E.D. Vzglyad na zhizn' cherez okno genoma. V 3 t. T. 1: Ocherki strukturnoj molekul'jarnoj genetiki. M.: Nauka, 2009. (In Russ.)]
39. Фейнман Р. Характер физических законов. Пер. с англ. 2-е изд., испр. Гл. ред. физ.-мат. лит.-ры. Библио-чка «Квант». Вып. 62. М.: Наука, 1987. 160 с. [Fejnman R. Harakter fizicheskikh zakonov. Per. s angl. 2-e izd., ispr. // Gl.red.fiz.-mat.lit. Bibl-chka «Kvant». Vyp. 62. M.: Nauka, 1987. 160s.]
40. Тимофеев-Ресовский Н.В. Генетика, эволюция, значение методологии в естествознании. Лекции, прочитанные в Свердловске в 1964 году. Екатеринбург: Токмас-Пресс, 2009. 240с. [Timofeev-Resovskij N.V. Genetika, jevoljuciya, znachenie metodologii v estestvoznanii. Lekcii, pročitannye v Sverdlovске v 1964 godu. Ekaterinburg: Tokmas-Press, 2009. 240s. (In Russ.)]

The Methodology of EPR Spectroscopy using in Analysis of Physical and Chemical Mechanisms of Radio-Genetics Damages in Animal and Human Organisms

V. L. Sharygin*, **

¹Semenov Federal Research Center for Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

*E-mail: sharygin@chph.ras.ru

**E-mail: sharygin2011@mail.ru

The study of the complex of EPR characteristics of metabolic reactions involving free radicals and paramagnetic metal complexes revealed a pronounced dose-dependent dynamic SOS response of the most important life support systems of the body under General gamma irradiation. Studies in actively proliferating tissues of the ribonucleotide reductase enzyme using low-temperature EPR spectroscopy and parallel cytogenetic analysis of tissues and blood indicate initial radiation-induced trigger events that initiate the generation of DNA damage in hematopoietic organs. In the mechanism of the anti-radiation effect of radioprotectors, an increase in the activity of ribonucleotide reductase and the induction of deoxyribonucleotide synthesis is necessary for effective damage repair and DNA synthesis in cells of radiosensitive organs. The use of EPR biomarkers allowed us to justify the doses and modes of administration of radioprotectors to obtain optimal radio protection.

Keywords: EPR method, γ -radiation, DNA, proteins, deoxyribonucleotides, extracellular DNA, radioresistance of organism, radioprotectors