

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ВОЕННОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОЕННО-МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМЕНИ С. М. КИРОВА»
МИНИСТЕРСТВА ОБОРОНЫ РФ**

НА ПРАВАХ РУКОПИСИ

ОНИКИЕНКО СЕРГЕЙ БОРИСОВИЧ

**СТРАТЕГИЯ ПЕРЕКРЕСТНОЙ ЗАЩИТЫ ПРИ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ
ВОЗДЕЙСТВИЯХ НА ОСНОВЕ ФИЗИЧЕСКОЙ МОДИФИКАЦИИ
БИООБЪЕКТОВ И ХИМИЧЕСКОЙ МОДИФИКАЦИИ
БЕЛКОВ ТЕПЛОВОГО ШОКА-70
(КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

14.03.03 – ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ

**Диссертация на соискание ученой степени
доктора медицинских наук**

**НАУЧНЫЙ КОНСУЛЬТАНТ:
ДОКТОР МЕДИЦИНСКИХ НАУК, ПРОФЕССОР, АКАДЕМИК РАН
В.А. ЧЕРЕШНЕВ**

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ

2019

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ЗАЩИТНЫЕ И ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ПРИ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ, ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ СВЯЗАННЫХ С НИМИ ИММУННЫХ И МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	21
1.1. Стратегии адаптации организма при экстремальных патогенных воздействиях...	21
1.2. Перспективные технологии медицинской защиты при экстремальных воздействиях	26
1.2.1. Защита от биопатогенов.....	26
1.2.2. Противорадиационная защита	31
1.2.3. Защита от поражений при воздействии токсических веществ	34
1.2.4. Повышение устойчивости организма к массивной кровопотере, механической травме и экстремальным истощающим физическим нагрузкам.....	36
1.3. Защитные и патологические реакции при длительном поступлении в организм малых доз экотоксикантов.....	41
1.4. Профилактика и лечение иммунных и метаболических нарушений связанных с воздействием экотоксикантов	47
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ НАУЧНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ	58
2.1. Методы оценки эффективности физической модификации.....	59
2.2. Методы оценки защитных свойств модифицированных биомишеней, БТШ70 и их индукторов	66
2.3. Методы оценки эффективности применения лазерного излучения для повышения эффективности вакцинации.....	70
2.4. Определение электрофильных ксенобиотиков в биосредах, воде и в воздухе.....	72
2.5. Исследование нарушений клеточного метаболизма	72
2.6. Методы оценки иммунного статуса.....	73
2.7. Определение белков теплового шока (БТШ70).....	75
2.8. Электронно-микроскопические исследования	75
2.9. Клинические исследования.....	76
2.10. Методы статистического анализа полученных данных	76
ГЛАВА 3. РАЗРАБОТКА И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СРЕДСТВ ЗАЩИТЫ ОТ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ, ПОЛУЧЕННЫХ НА ОСНОВЕ ЛАЗЕРНЫХ, РАДИАЦИОННЫХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ.....	77
3.1. Оценка эффективности модификации биообъектов	77
3.2. Оценка защитных свойств модифицированных микробных ЛПС	84
3.3. Защита от респираторного дистресс-синдрома при высокопатогенном гриппе и ингаляционном отравлении фосгеном у мышей	92
3.4. Повышение эффективности вакцинации.....	97
3.5. Защита от поражений при общем γ -облучении и интоксикации циклофосфаном	106
3.6. Защитный эффект продукта лазерной активации дрожжевой культуры при общем γ -облучении и интоксикации циклофосфаном у мышей	111

3.7. Защита от геморрагического шока, травматического токсикоза , повышение устойчивости к интенсивным истощающим физическим нагрузкам и глубоководным погружениям	121
ГЛАВА 4. КОРРЕКЦИЯ ИММУННЫХ И МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ХИМИЧЕСКИХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ НА ОРГАНИЗМ ПОДОПЫТНЫХ ЖИВОТНЫХ И РАБОТНИКОВ НЕФТЕПЕРЕРАБАТЫВАЮЩЕГО ПРЕДПРИЯТИЯ	135
4.1. Коррекция иммунных и метаболических нарушений у подопытных животных .	135
4.2. Состояние здоровья, иммунные и метаболические нарушения и их коррекция у сотрудников нефтеперерабатывающего предприятия	141
ГЛАВА 5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	147
ВЫВОДЫ.....	157
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	159
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	160
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	163

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Актуальной задачей современной патофизиологии является изучение патогенетических механизмов развития дезадаптации и разработка оптимальных стратегий защиты и адаптации организма при экстремальных воздействиях.

Клеточной основой развития системного воспаления при экстремальных воздействиях являются реакции клеточного стресса. Их генерализация на системном уровне — основа патогенеза экстремальных состояний [191, 375]. Истощение механизмов адаптации ведет к развитию анергии с высоким риском летального исхода

Стратегия поиска возможностей повышения выживаемости людей, пострадавших в результате экстремальных воздействий основана на необходимости устранения патологических синдромов дезадаптации: клеточного стресса и его системных проявлений (системного воспаления). Известно, что белок клеточного стресса БТШ70 повышает выживаемость и адаптацию клеток в экстремальных условиях [583, 625]. Он перекрестно повышает толерантность к разным экстремальным воздействиям [5, 6], активирует механизмы перекрестной защиты организма при летальных инфекциях [126], токсических [573, 384, 350] и радиационных воздействиях, экстремальных физических нагрузках. [682, 194, 44]

В фазе гипореактивности и анергии выявлена избыточная экспрессия «тормозных» рецепторов клеток-эффекторов иммунной системы. Блокаторы «тормозных» PD-1 и Tim-3 рецепторов Т-лимфоцитов предотвращают развитие иммуносупрессии и повышают эффективность лечения критических состояний: сепсиса [202, 743], респираторного дистресс-синдрома, геморрагического шока [530], высокопатогенного гриппа [392] и травматических поражений [259].

Нобелевская премия по медицине в 2018 году была присуждена за открытие «тормозных» рецепторов лимфоцитов и создание их блокаторов.

Установлено, что БТШ70 является двойным блокатором PD-1 и Tim-3 рецепторов лимфоцитов [124].

Активность этих рецепторов снижается из-за нарушения их взаимодействия с эндогенными активаторами. Это может быть обусловлено связыванием БТШ70 с лигандами Tim-3 рецепторов HMGB1 (амфотерином) [378, 318] и фосфатидилсерином [391, 471, 134, 258]. Дефицит образования и мобилизации, эндогенных БТШ70 в ответ на различные раздражители приводит к избыточной активации «тормозных» рецепторов лимфоцитов и развитию иммуносупрессии. Это обосновывает целесообразность применения экзогенных БТШ70 для предотвращения гипореактивности и анергии («иммунный паралич») из-за гиперэкспрессии «тормозных» PD-1 и Tim-3 рецепторов при экстремальных стрессорных воздействиях

Источниками защитных БТШ70 могут быть микроорганизмы, например *E. Coli* и пищевые дрожжи [171, 573,74]. Химическими индукторами БТШ70 являются бактериальные ЛПС, [463, 246], производные хиноидных соединений [331] и адаптогены [7, 551].

Для защиты от биопатогенов, химических и радиационных поражений используют блокаторы TLR4 и TLR5 рецепторов – нетоксичные производные бактериального эндотоксина и флагеллин [134, 234, 357, 689], а также лиганды Fc-рецепторов [317, 433]. БТШ70 может связываться с бактериальными эндотоксинами и запускать механизмы их нейтрализации [525].

Разработка препаратов на основе рекомбинантных БТШ70 и нетоксичных производных бактериальных ЛПС для коррекции иммунных нарушений при воздействии биопатогенов и факторов абиотического стресса является актуальной проблемой патологической физиологии экстремальных состояний.

БТШ70 относят к сигнальным молекулам повреждения, которые запускают защитные механизмы клеток при экстремальных воздействиях [639].

Эти молекулы можно получить путем моделирования повреждения биомембран при воздействии на них физических факторов высокой интенсивности, например, лазерного излучения и пучка электронов.

«Перекрестная защита» - это развитие устойчивости к различным экстремальным воздействиям высокой интенсивности путем активации реакций адаптации организма в ответ на раздражители умеренной интенсивности [111].

Стратегия перекрестной защиты направлена на выживание организма при экстремальных патогенных воздействиях

Объективные трудности экспресс-диагностики экстремальных патогенных воздействий (ионизирующее излучение, токсические химикаты, биопатогены) и неопределенность потенциальных угроз ограничивают эффективность средств узконаправленного действия и диктуют необходимость разработки средств перекрестной защиты широкого спектра действия.

Решение проблемы перекрестной защиты от невакцинных штаммов биопатогенов также является актуальной задачей патологической физиологии и медицины экстремальных состояний [723]

Представляется актуальным спектр вопросов, связанных с развитием иммунных нарушений и изменением течения заболеваний при длительном воздействии на организм факторов абиотического стресса малой интенсивности [121; 77; 196].

Особое внимание привлекает проблема коррекции иммунных и метаболических нарушений, обусловленных длительным воздействием на организм малых доз токсических химических веществ [1; 199].

Химические загрязнители и бактериальные эндотоксины запускают универсальный синдром клеточного стресса, который сопровождается повышением образования защитных белков стресса – БТШ70 [489, 550, 211]. При длительном воздействии ксенобиотиков уровень защитных БТШ70, наоборот, снижается [350].

Интенсивность и продолжительность действия раздражителя определяют время перехода из фазы гиперреактивности в фазу гипореактивности клеточного стресса и выбор резистентной или толерантной стратегии адаптации. Для резистентной стратегии характерно повышение продукции цитокинов, активация клеток, а для толерантной, наоборот, снижение этих показателей . [40]. Это является основанием для назначения активирующей или заместительной терапии, в частности экзогенных БТШ70.

Синдромно-сходные иммунные нарушения (феномен иммунной гипореактивности) развиваются при длительном воздействии на организм химических загрязнителей и затяжном течении язвенной болезни желудка [490, 489, 53].

При длительных экотоксических нагрузках течение язвенной болезни желудка приобретает затяжной характер [65; 137]. БТШ70 способствуют заживлению язвенных поражений желудка [662].

Адаптогены и актопротекторы повышают работоспособность при экстремальных истощающих физических нагрузках, препятствуют развитию рабдомиолиза [91; 122].

Сходство структуры молекулы синтетических актопротекторов и индукторов БТШ70 на основе природных хиноидных соединений позволяет предположить, что актопротекторы могут быть индукторами БТШ70.

Известные адаптогены (женьшень, элеутерококк, родиола розовая) являются одновременно актопротекторами и индукторами эндогенных БТШ70 [240, 551].

Разработка новых технологий активации микроорганизмов-продуцентов БТШ70, получения защитных белков стресса при воздействии на клетки физических факторов и химических индукторов БТШ70, изучение эффективности применения этих белков и продуктов их химической модификации для защиты от поражений при экстремальных воздействиях является актуальной проблемой патологической физиологии экстремальных состояний.

Таким образом, разработка новых стратегий перекрестной защиты при экстремальных воздействиях, коррекции иммунных и метаболических нарушений, вызываемых длительным воздействием малых доз токсических веществ, является актуальной задачей патологической физиологии и медицины экстремальных состояний.

Степень разработанности темы исследования

В работах В.А. Черешнева и Е.Ю. Гусева (2004-2019) представлено патофизиологическое обоснование необходимости ликвидации синдрома клеточного стресса (клеточной основы «системного воспаления») для перекрестной защиты от экстремальных воздействий. Проблемам раскрытия механизмов перекрестной адаптации и разработки средств перекрестной защиты при экстремальных воздействиях посвящены труды отечественных ученых: Н.В. Лазарева (1959), Л.А. Тиунова (1987, 1995), И.И. Брехмана (1990), Ф.З. Меерсон (1993), Е.Б.Шустова (1996), В.С.Новикова (1998), Л.Х. Гарькави (2006), Л.А. Степановой (2013).

Существенный вклад в изучение роли TLR и Fc-рецепторов в механизмах защиты от биопатогенов, радиационных и токсических воздействий внесли В.В. Зверев (2007), С.А. Недоспасов (2012), М. Vijay-Kumar (2008), К. El-Bakkouri (2011), К. Baker (2013).

В работах S. M. Opal (2005), И.М. Ермак (2006), М.Г. Винокурова (2009), А.А. Маркиной (2017), N.Lee (2010), S. Korff (2013), К.А. Shirey (2013), D.R. Weilhammer (2013) показана перспективность применения нетоксичных производных микробных ЛПС при экстремальных патогенных воздействиях.

Большой вклад в разработку средств защиты от биопатогенов и токсических веществ на основе БТШ70 внесли Г.А. Кустанова (2006) Б.А.Маргулис (2009, 2010), А.А. Махлай (2011), М.Б. Евгенийев (2013), S.K.

Calderwood (2007), G. Multhoff (2006), A. Asea (2008, 2013), R. Morimoto (2011), K. Asami (2017).

Исследования М.Ю. Шкурникова (2009, 2012), Е.С. Гребенюк (2010), J.P. Morton (2009), S. Oliynyk (2012, 2013), S.M. Gehrig (2012), S.M. Senf (2013), C.S Moura (2017) позволили выявить у БТШ70 свойства актопротекторов и миопротекторов.

В последнее десятилетие прорыв в области биологических инновационных технологий определил появление рекомбинантных белков пролонгированного действия (конъюгаты белков с ПЭГ, Fc-гибридные белки), что позволило значительно повысить эффективность их применения в клинической медицине [354, 355].

В работах И.П. Ивановой (2009), В.Г. Спирина (2009), М.И. Заславской (2009), В.А. Шестакова (2013), О. N. Pachomova (2012), К. Morotomi-Yano (2012), S.J. Veebe (2013), определены новые подходы к получению средств защиты от патогенных воздействий на основе стресс-активации и модификации биообъектов при импульсном воздействии на них физических факторов высокой интенсивности.

В последнее десятилетие прорыв в области биологических инновационных технологий определил появление рекомбинантных белков пролонгированного действия (конъюгаты белков с ПЭГ, Fc-гибридные белки), что позволило значительно повысить эффективность их применения в клинической медицине.

Однако в трудах этих ученых не определены оптимальные параметры физических воздействий, необходимые для стресс-активации биообъектов, получения нетоксичных производных ЛПС и средств защиты от экстремальных патогенных воздействий.

Не разработаны стратегии применения модифицированных ЛПС и БТШ70 для защиты от биопатогенов, радиационных и токсических воздействий.

Не решены задачи подбора оптимальных доз препаратов, сроков их назначения, продолжительности лечения, эффективности сочетанного применения нетоксичных производных ЛПС и БТШ70, целесообразности назначения экзогенных БТШ70 или мобилизации их из клеточных депо.

Отсутствуют технологии получения рекомбинантных БТШ70 пролонгированного действия. Недостаточно раскрыты клеточные механизмы перекрестной иммунной защиты и при экстремальных воздействиях .

В связи с вышеизложенным сформулированы цель и задачи исследования.

Цель исследования

Обосновать стратегию и разработать методы активации «перекрестной защиты» — повышения устойчивости к экстремальным воздействиям: биопатогенам, массивной кровопотере, длительному сдавливанию мягких тканей, токсическим химикатам, ионизирующей радиации, интенсивным истощающим физическим нагрузкам и глубоководным погружениям на основе продуктов физической модификации биообъектов и химической модификации БТШ70.

Задачи исследования

1. Представить патофизиологическое обоснование стратегии перекрестной защиты от биопатогенов, токсических и радиационных поражений
2. Установить БТШ-зависимые механизмы защиты от респираторного дистресс-синдрома при высокопатогенном гриппе и отравлении фосгеном у мышей
3. Разработать адъюванты вакцин на основе лазерной мобилизации эндогенных БТШ70, применения экзогенных БТШ70 и физической модификации биомишеней
4. На основе применения БТШ70 разработать технологии повышения устойчивости к массивной кровопотере, длительному сдавливанию мягких

тканей, интенсивным истощающим физическим нагрузкам и глубоководным погружениям

5. Оценить эффективность применения БТШ70 и их индукторов для восстановления функций иммунной системы при экотоксических нагрузках в эксперименте и у работников нефтеперерабатывающего предприятия
6. Предложить активационные пробы для выбора тактики лечения БТШ-зависимых патологических процессов при экстремальных воздействиях

Научная новизна

Разработаны новые технологии модификации биомишеней с использованием пучка электронов и лазерного излучения, показан их защитный эффект на экспериментальных моделях патологических состояний, обусловленных биопатогенами, токсическими и радиационными воздействиями.

На основе БТШ70 разработаны средства защиты от токсического отека легких, высокопатогенного гриппа у мышей, геморрагического шока, травматического токсикоза и радиационных поражений, профилактики и лечения декомпрессионной болезни при экстремальных глубоководных погружениях

Впервые установлен молекулярный механизм защитного действия БТШ70 при токсическом отеке легких и высокопатогенном гриппе у мышей – ликвидация выраженного дисбаланса провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (IL-6/IL-10), нейтрализация воспалительного цитокина замедленного действия HMGB1, восстановление иммунной реактивности путем блокады «тормозных» PD-1 и Tim-3 рецепторов Т-лимфоцитов.

Впервые получены инновационные препараты пролонгированного действия на основе конъюгатов БТШ70 с полиэтиленгликолем и гибридные белки на основе БТШ70 и Fc-фрагмента IgG человека (патенты США № 9217018, № 9937281).

Впервые получены нетоксичные низкомолекулярные производные бактериальных эндотоксинов путем электронно-лучевой обработки исходного сырья с последующим фракционированием методом ультрафильтрации (патент РФ № 2662916).

Разработана новая технология получения адъювантов вакцин, основанная на применении лазеров для индукции выхода БТШ70 из клеток кожи во внеклеточное пространство с последующим введением вакцины в зону облучения (Патент РФ № 2345788, Европатент EP-2341932, патент США № 10052376).

Впервые выявлены актопротекторные свойства экзогенных БТШ70 и продуктов их химической модификации (патент США № 9616100, патент РФ № 2654231)

Разработана инновационная технология модификации пучком электронов вируса гриппа и парамиксовируса Сендай для получения средств перекрестной защиты от разных штаммов вируса гриппа.

Впервые установлены защитные свойства БТШ70 и их индукторов, продуктов радиационной модификации полисахаридов Зостеры и бактериальных ЛПС при экотоксических воздействиях в эксперименте.

Для выбора тактики коррекции иммунных и метаболических нарушений при экотоксических воздействиях предложены активационные пробы (инкубация лейкоцитов крови с ЛПС) и гипоксическая ингаляционная проба (индукция секреции БТШ70).

Впервые установлена связь защитного эффекта масляного экстракта хмеля с восстановлением функций рецепторов врожденного иммунитета при экотоксических воздействиях, разработана оригинальная технология его получения (патент РФ №2344167).

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

Разработана научная концепция перекрестной защиты от экстремальных патогенных воздействий путем блокады механизмов патологического

синдрома клеточного стресса и его системных проявлений с использованием нетоксичных производных бактериальных ЛПС и БТШ70. Они повышают устойчивость к токсическим и радиационным воздействиям, биопатогенам, массивной кровопотере, защищают организм от травматического токсикоза и экстремальных физических нагрузок и развития декомпрессионной болезни при барокамерной симуляции глубоководных погружений

Предложена концепция стресс-ксенобиотерапии – применение продуктов стресс-активации ксеногенных организмов по отношению к защищаемому для протезирования защитных механизмов клеток при истощении резервов адаптации.

Доказана взаимосвязь развития иммунной гипореактивности при различных экстремальных воздействиях с гиперэкспрессией ингибиторных PD-1 и Tim-3 рецепторов T-лимфоцитов и обоснована возможность использования блокаторов этих рецепторов для восстановления иммунной реактивности. На моделях токсического отека легких и высокопатогенного гриппа у мышей доказано, что БТШ70 и гибридные белки на основе БТШ70 и Fc-фрагмента IgG (БТШ70-Fc) блокируют «тормозные» PD-1 и Tim-3 рецепторы, экспрессия которых повышается при респираторном дистресс-синдроме..

Раскрыты молекулярные и клеточные механизмы защитного эффекта БТШ70 и продуктов их химической модификации при экстремальных истощающих физических нагрузках: увеличение плотности капиллярной сети, восстановление целостности мембран миоцитов и мобилизация сателлитных клеток мышц.

Установлен механизм повышения эффективности вакцинации при лазерном облучении кожи в зонах введения противогриппозной вакцины – мобилизация эндогенных БТШ70, которые обладают свойствами адъювантов вакцин.

Доказаны теоретические положения о целесообразности назначения заместительной терапии на основе экзогенных БТШ70 в фазу гипореактивности и анергии клеточного стресса при длительном воздействии на организм

химических загрязнителей.

Значение результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

Разработаны лазерные адъюванты вакцин, которые повышают их иммуногенность и могут существенно (в 50-100 раз) снизить дозу вакцины, необходимую для осуществления эффективной вакцинации.

Создание средств перекрестной защиты от родственных штаммов микроорганизмов на основе модификации вирусов пучком электронов позволит сэкономить средства на получение новых вакцин, связанных с мутациями этих микроорганизмов.

Разработано новое поколение блокаторов «тормозных» PD-1 и Tim-3 рецепторов Т-лимфоцитов – рекомбинантные БТШ70 и гибридные белки на основе БТШ70 и Fc-фрагмента IgG человека (БТШ70-Fc), которые могут быть использованы для восстановления иммунной реактивности при БТШ-зависимых патологических состояниях с повышенной экспрессией этих рецепторов.

Доказано, что экзогенный БТШ70 и его производные пролонгированного действия повышают работоспособность и препятствуют развитию поражений мышц при интенсивных истощающих физических нагрузках.

Они являются перспективными средствами защиты от пульмонотоксиантов, травматического токсикоза, радиационных поражений, повышения устойчивости организма к массивной кровопотере, предотвращения развития геморрагического шока, декомпрессионной болезни при глубоководных погружениях, а также защиты от экотоксических воздействий.

Определена эффективность применения индукторов БТШ70, а также продуктов физической модификации бактериальных ЛПС и растительных полисахаридов для защиты от экотоксических воздействий.

Активационные пробы с бактериальным ЛПС можно использовать для выбора адекватных путей коррекции иммунных нарушений при экотоксических воздействиях в разные фазы интоксикации: в первой фазе – нетоксич-

ных производных ЛПС для подавления избыточной активации TLR4, а во второй – экзогенного БТШ70 и его индукторов для восстановления иммунной реактивности организма.

Отрицательные результаты активационных проб являются основой для назначения заместительного лечения – стресс-ксенобиотерапии (продуктов стресс-активации ксеногенных организмов по отношению к защищаемому).

Методология и методы исследования

Методология исследования подразумевает сравнительную оценку эффективности средств защиты при экстремальных воздействиях (токсичные химикаты, ионизирующее излучение, биопатогены, массивная кровопотеря, истощающие физические нагрузки, травматический токсикоз в эксперименте и клинических условиях. Исследование выполнено с соблюдением всех принципов экспериментальной и клинической эпидемиологии (отбор, рандомизация, формирование референтных групп, контроля, статистическая обработка результатов). Дизайн клинического раздела работы представляет собой наблюдательное когортное проспективное и ретроспективное сравнительное исследование с привлечением клинических, лабораторных, инструментальных и статистических методов исследования. Экспериментальный раздел работы выполнен в дизайне рандомизированного открытого исследования с использованием иммунологических, токсикологических, радиобиологических, лабораторных и статистических методов исследования.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Стратегия перекрестной защиты при экстремальных воздействиях (токсичные химикаты, ионизирующее излучение, биопатогены) включает применение продуктов модификации пучком электронов вирусов и бактериальных ЛПС, лазерной активации дрожжевых культур и экзо-

генных БТШ70.

2. БТШ70 и их производные пролонгированного действия повышают устойчивость организма к массивной кровопотере, длительному сдавливанию мягких тканей, экстремальным глубоководным погружениям и интенсивным истощающим физическим нагрузкам
3. Лазерное облучение кожи в зоне вакцинации и модификация вирусов пучком электронов повышают эффективность применения противогриппозной вакцины
4. БТШ70 и их индукторы восстанавливают активность иммунной системы при экотоксических воздействиях в эксперименте и у сотрудников нефтеперерабатывающего предприятия

Степень достоверности результатов работы

Степень достоверности определяется большой выборкой наблюдаемых контингентов с формированием изучаемой группы и группы сравнения, большим количеством экспериментальных животных, рандомизированных с формированием групп сравнения и активного контроля, адекватными методами исследования, длительными сроками наблюдения и корректными методами статистической обработки. Сформулированные в диссертации выводы, положения и рекомендации аргументированы и логически вытекают из системного анализа результатов выполненных исследований.

Апробация и практическая реализация

По теме диссертации опубликовано 79 печатных работ, сделано 57 докладов на научных конференциях. Материалы диссертации доложены на Всеармейских научно-практических конференциях: «Медицинские последствия экстремальных воздействий на организм» (С-Пб, 2000), «Терапевтическая помощь в экстремальных ситуациях» (С-Пб, 2003); конференциях: «Ак-

туальные вопросы диагностики и лечения» (С-Пб, 1995, 1997, 1999, 2001); международном форуме «Канун III тысячелетия – время итогов» (М., 1999); международных конференциях «Оптика лазеров» (С-Пб., 1993, 2000, 2010); конференции «Современные технологии диагностики и терапии инфекционных болезней» (С-Пб, 1999); международной научной конференции «Вирусные инфекции на пороге XXI века: эпидемиология и профилактика» (С-Пб, 1999); VI Российском съезде врачей-инфекционистов (С-Пб, 2003); Всероссийской научно-практической конференции «Гастроэнтерологические аспекты врачебной практики» (С-Пб, 2000, 2001); научно-практической конференции «Военно-морская и радиационная гигиена: достижения и итоги развития» (С-Пб., 2000); научно-практических конференциях «Достижения и проблемы военно-морской и клинической медицины» (С-Пб, 1995); «Актуальные вопросы госпитальной медицины» (Севастополь, 2003); VIII Международном конгрессе европейской медицинской лазерной ассоциации (М., 2001); II, III, IV съездах токсикологов России (М., 2003, 2008, 2013); научно-практической конференции «Актуальные вопросы военной и практической медицины» (Оренбург, 2004); I Международной конференции по химии и коммерциализации химических технологий (М., 2004); VII и X Всероссийских научно-практических конференциях «Актуальные вопросы клиники, диагностики и лечения больных в многопрофильном лечебном учреждении» (С-Пб., 2005, 2011); 36-ом и 39-ом Всемирных конгрессах по военной медицине (С-Пб, 2005; Абуджа, Нигерия, 2011); II Всемирном конгрессе по стрессу (Будапешт, 2007); конференции Европейской оптической ассоциации (Париж, 2008); IV, V, VI международных симпозиумах «Белки теплового шока в биологии и медицине» (Вудс-Холл, США, 2008, 2010; Александрия, США, 2012); Всероссийской научно-практической конференции «Химическая безопасность Российской Федерации в современных условиях (С-Пб, 2010); V, VI международных конгрессах «Белки стресса в биологии и медицине» (Квебек, Канада, 2011; Шеффилд, Великобритания, 2013), II международной научно-практической конференции «Высокие технологии, фундаментальные, при-

кладные исследования в физиологии и медицине» (С-Пб, 2011); V Всемирной научной конференции «Защита от биологических, химических, радиационных и ядерных поражений» (Норфолк, США, 2012), круглом столе «Фундаментальная наука Военно-Морскому флоту» в рамках международного военно-морского салона (С-Пб, 2013), Международном Форуме «Экстремальная медицина и биология. Инвестиционные проекты России» (С-Пб, 2013), Международной научно-практической конференции по военной медицине (С-Пб, 2013), Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы диагностики, профилактики и лечения профессионально обусловленных заболеваний» (Сочи, 2013), III Международной научно-практической конференции «Современные проблемы безопасности жизнедеятельности: настоящее и будущее» (Казань, 2014); научно-практической конференции, посвященной проблемам изучения резистентности организма к действию экстремальных факторов внешней среды (С-Пб, 2014); Международной научной конференции «Атомтех-2015» (М., 2015), Всероссийских научных конференциях: «Медико-биологические проблемы токсикологии и радиологии» (С-Пб, 2015); «Фармакология экстремальных состояний» (С-Пб, 2015), «Совершенствование системы радиационной, химической и биологической защиты войск и населения страны в мирное и военное время» (М., 2015, 2017), «Актуальные гигиенические аспекты нанотоксикологии» (Екатеринбург, 2016), «Ядерные технологии на страже здоровья (М., 2016), «Медико-биологические аспекты обеспечения химической безопасности Российской Федерации» (С-Пб, 2017), «Токсикология и радиобиология XXI века» (С-Пб, 2017), «Актуальные проблемы медико-санитарного обеспечения деятельности объектов морской техники, предприятий с вредными и опасными производственными факторами, а также экологического благополучия территорий, обслуживаемых Федеральным медико-биологическим агенством (С-Пб, 2017), «Актуальные вопросы военно-полевой терапии» (С-Пб, 2017), «Актуальные направления развития медицинских средств защиты от экстре-

мальных факторов» (М., 2017), международной научной конференции «Ингибиторы иммунных контрольных точек» (Бостон, США, 2016, 2017, 2018).

Результаты исследований защищены патентами РФ №2191604 «Способ получения биологически активных веществ», №2209085 «Способ повышения антигенности и иммуногенности биоматериала», №2272420 «Способ активации дрожжей», №2344167 «Хмелевой экстракт», №2345788 «Способ лазерной вакцинации больных с метастатическими формами рака»; №2654231 «Способ применения БТШ70 для повышения работоспособности и лечения БТШ70–зависимых заболеваний», №2685867 «Гибридные белки и белковые конъюгаты на основе белка теплового шока-70 (БТШ70) и способы их применения», №2662916 «Способ терапии метастатического рака с использованием вируса Сендай», Европатентом EP-2341932 «Получение адъювантов вакцин с помощью высокоинтенсивных электрических воздействий, патентами США № 10052376 «Laser-based vaccine adjuvants», № 9217018 « Hsp70 fusion protein conjugates and uses thereof », № 9937241 « Degradation resistant Hsp70 formulations and uses thereof », № 9616100 « Methods of use Hsp70 for increased performance or treatment of Hsp70 related diseases».

Результаты исследования внедрены в работу кафедр и клиник ВМА (военно-полевой терапии, пропедевтики внутренних болезней, общей и военной эпидемиологии); НИИ гигиены, профессиональной патологии и экологии человека (пос. Кузьмолово, Ленинградская область); Государственной Корпорации «Ростех» (АО «РТ-Медицина»), Центра Вакцин и Иммунотерапии Главного Госпиталя штата Массачусеттс, США; компании «Boston-Bioscom», Boston, USA.

Исследование «Поисковые исследования по разработке методов наноструктурной модификации микроорганизмов и биоматериалов в интересах создания перспективных средств борьбы с опасными инфекциями, последствиями воздействия высокотоксичных химических соединений и скрытого воздействия на ВВТ» проведено в рамках Гособоронзаказа (госконтракт №542/01). Работа поддержана РФФИ по проектам: №010132 «Исследование

физических и механических процессов в биологических материалах при интенсивных импульсных воздействиях»; №0401325 «Теоретическое и экспериментальное исследование гидродинамических процессов с импульсными воздействиями на биообъекты в жидкости»; №040108821 «Разработка методов импульсной гидродинамической модификации и активации биообъектов»; № И-0771 «Лазерные технологии модификации биоматериалов для создания вакцин нового типа и разработка перспективных подходов к диагностике и лечению ряда социально значимых заболеваний человека» ФЦП «Интеграция науки и высшего образования России на 2002-2006 гг.».

Центром «Биопромышленная Инициатива» Госдепартамента США поддержан наш проект «Разработка лазерных технологий модуляции иммунного ответа» (2006); компанией «Pfizer», США – «Лазерные адъюванты вакцин» (2008-2011); Национальным Институтом Здоровья США – проекты RC1DA028378 «Лазерные адъюванты вакцины от никотиновой зависимости» (2009-2011) ; R01AI105131 «Применение лазеров в ближнем ИК диапазоне вместо химических адъювантов вакцин» (2013-2017); 2R42AI1140-12-02 «Разработка лазерной системы ближнего ИК–диапазона для повышения эффективности вакцинации (2014-2018). Агенством Передовых Оборонных Исследовательских Проектов США – № 66001-101-2132 «Применение лазеров для повышения эффективности противогриппозной вакцины» (2010-2012); фондом Билла и Мелинды Гейтс – OPP1046276 «Разработка вакцины от полиомиелита на основе лазерных технологий» (2011-2013). Национальным Институтом Аллергии и Инфекционных Болезней США – 1R01AI089779 «Повышение эффективности противогриппозной вакцины без введения адъювантов» (2011-2016).

ГЛАВА 1. ЗАЩИТНЫЕ И ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ПРИ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ, ПРОФИЛАКТИКА И ЛЕЧЕНИЕ СВЯЗАННЫХ С НИМИ ИММУННЫХ И МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Стратегии адаптации организма при экстремальных патогенных воздействиях

Здоровье – это способность организма поддерживать гомеостазис, а болезни – это реакции адаптации, направленные на восстановление нарушенного гомеостазиса [100].

Существует две ключевые стратегии адаптации - реактивная (активационная) и толерантная (гипореактивность и анергия), которые направлены на сохранение гомеостазиса и выживание организма при экстремальных патогенных воздействиях [85]. Выбор стратегии зависит от силы и продолжительности действия раздражителя [241, 38].

Антистрессорная реакция активации – это стереотипный адаптационный ответ на различные воздействия средней силы [34], а активационная терапия – система воздействий, основанная на адаптационных реакциях направленная на повышение резистентности и восстановление нарушенного гомеостазиса [33]. Она предназначена для защиты от повреждений при экстремальных воздействиях [111].

Гипореактивность и анергия при экстремальных воздействиях это древний механизм защиты, который сформировался в процессе эволюции, когда стратегия гипобиоза приходит на смену активным механизмам защиты. Двухфазный характер реактивности проявляется независимо от вида стрессора [129]. Стрессорная переактивационная ареактивность – защитная реакция адаптации и неспецифическая основа патогенеза заболеваний. При длительных экстремальных воздействиях резкое напряжение антистрессорных реакций и избыточная активность стресс-лимитирующих систем сопровождаются резким снижением реактивности [241].

Системы стресс-активации и ареактивности дополняют друг друга в диалектическом единстве и вместе осуществляют регуляцию гомеостаза. Переактивация переходит в состояние ареактивности, особую форму сохранения гомеостаза, повышения резистентности и снижения энергозатрат. Это своеобразная защита, подобно отдыху при истощении резервов организма связанных с экстремальными воздействиями. Биологическая целесообразность гипо- и ареактивности состоит в предотвращении чрезмерного ответа, который может привести к гибели организма [34].

Гормезис - это адаптационный ответ на раздражители малой и средней интенсивности, активация механизмов перекрестной защиты от экстремальных воздействий высокой интенсивности — токсических веществ, γ -облучения, биопатогенов, истощающих физических нагрузок и т.д. [491].

Гормезис – это сверхкомпенсационный ответ, стимуляция повреждающими факторами малой и умеренной интенсивности гомеостатических реакций клетки. Он повышает резистентность организма к патогенным воздействиям, способность отвечать на сильные повреждающие факторы [397]. Для гормезиса характерно явление перекрестного адаптационного ответа, причем переход в новое адаптированное состояние может происходить при воздействии различных стресс-факторов низкой интенсивности [254, 502]. Гормезис не зависит от химической структуры токсических веществ, активирует гены, которые обеспечивают синтез гомеостатических белков, в том числе включая БТШ70 [491]. Токсичные вещества независимо от их структуры вызывают изменения, которые распознаются клетками как сигнал к активации генома и синтезу БТШ70. БТШ являются материальной основой феномена адаптационной стабилизации структур. Они восстанавливают нативную структуру белков и препятствуют развитию конформационных заболеваний [492, 205]. С гормезисом связана активация системы иммунного надзора – повышение функциональной активности АПК, Т-лимфоцитов, макрофагов, секреции регуляторных цитокинов [12, 242].

Реакции сверхкомпенсации это частное проявление гормезиса в ответ на нарушения гомеостаза при экстремальных воздействиях [272]. К ним относят «восстановительный стресс», который развивается в ответ на образование токсических активных форм кислорода (АФК) и проявляется избыточным образованием восстановительных эквивалентов (редуктантов) [555].

При «восстановительном стрессе» однонаправленные изменения показателей могут быть проявлением как защитных, так и патологических реакций. С одной стороны избыток восстановительных эквивалентов нейтрализует АФК, а с другой – вызывает «восстановительную денатурацию» белков, накопление в клетках и внеклеточном пространстве их токсических агрегатов, нарушение протеостаза (белкового гомеостаза) и развитие патологических синдромов сверхкомпенсации [377].

Белки теплового шока препятствуют развитию нарушений протеостаза, восстанавливают исходную конформацию денатурированных белков, предотвращают образование и растворяют образованные токсические агрегаты белков [356]. Они препятствуют развитию патологических состояний, обусловленных «восстановительным стрессом» [602].

При восстановительном стрессе повышается активность ферментов синтеза NADPH^+ и восстановленного глутатиона – (Г6ФДГ), а также ГР, NADPH^+ -редуктазы [555]. Необходимо подавить избыточную активацию этих ферментов и уменьшить количество доноров электронов – биоредуктантов для профилактики и лечения синдромов сверхкомпенсации при восстановительном стрессе [565]. Подавление активности Г6ФДГ уменьшает чувствительность клеток к токсикантам и биопатогенам, а ее чрезмерная активация способствует развитию дегенеративных изменений в клетках [555].

Антиредуктанты – акцепторы электронов и электрофильные метильные группы нейтрализуют избыток восстановительных эквивалентов. К ним относят также соединения, вступающие в реакции восстановительного присоединения гидроксильных групп – витамины группы «В», антрохиноны и нафтохиноны. Электрофильные биомолекулы препятствуют взаимодействию

электронов с кислородом, чрезмерному образованию АФК, а также нейтрализуют избыток восстановительных эквивалентов [565]. Это необходимо для профилактики и лечения вызываемых восстановительным стрессом патологических состояний. Электрофильные метильные группы нейтрализуют избыток восстановительных эквивалентов, в результате этой реакции образуется метан. Повышение его содержания в выдыхаемом воздухе свидетельствует о тяжести восстановительного стресса [369]

Малые концентрации H_2O_2 вызывают «восстановительный взрыв» – интенсивное импульсное образование избытка восстановительных эквивалентов, которые обеспечивают защиту организма от последующего воздействия высоких доз токсических форм кислорода. «Восстановительный взрыв» представляет собой частное проявление гормезиса – избыточной активации защитно-приспособительных реакций в ответ на раздражители малой и средней интенсивности [669, 637]

Малые дозы АФК играют защитную роль, а большие вызывают окислительные повреждения биомолекул со связанными с ними патологические состояния [520, 584].

Реакция сверхкомпенсации вначале является защитной; при увеличении ее длительности она становится патологической из-за накопления значительного количества восстановленных эквивалентов, вызывающих нарушения протеостаза. Антиредуктанты могут быть использованы для их нейтрализации. Основанием для их назначения является длительное повышение активности ферментов синтеза восстановленного глутатиона – Г6ФДГ, ГР, $NADPH^+$ – зависимой люминесценции клеток, а также повышение содержания метана в выдыхаемом воздухе [369].

При «восстановительном стрессе» возрастает потребность организма в молекулярных шаперонах, необходимых для восстановления нарушенного протеостаза и предотвращения формирования патологических синдромов сверхкомпенсации. БТШ70 препятствуют развитию патологических синдромов при восстановительном стрессе. В стадии компенсации перспективно

применение индукторов БТШ70 – женьшеня, родиолы розовой, элеутерококка, ксантохумола [7, 673]. Альтернативным путем индукции эндогенных защитных БТШ70 является гипоксическое (ишемическое) и фармакологическое кондиционирование. Для этого применяют барокамерные гипоксические тренировки, кратковременное (5мин) сдавливание (наложение жгутов на конечности), прижигание точек акупунктуры, медицинские газы – ксенон и гелий, бактериальные ЛПС, байкалин, берберин, салицилаты, диазоксид [93, 171, 255, 463, 282, 731, 388, 578, 399].

При истощении резервов адаптации снижается способность организма к синтезу и секреции БТШ в ответ на стрессорные воздействия. Это является основанием для назначения заместительной терапии экзогенными БТШ70 или использования продуктов стресс-активации животных организмов [554, 561]. Альтернативный путь решения этой задачи основан на применении у животных для защиты от экстремальных воздействий продуктов ксеногормезиса (стресс-протекторов), которые образуются в растениях при воздействии на них неблагоприятных факторов окружающей среды [400, 396]. Свойствами ксеногорметиннов обладают индукторы БТШ70 ресвератрол, куркурмин, сесквитерпены (зерумбон), изотиоцианаты и тирозол [672, 498, 741].

При воздействии опасных биопатогенов и токсических веществ развивается синдром системного воспалительного иммунного ответа, т.н. “цитокиновая буря”. Реакции сверхкомпенсации (компенсаторный противовоспалительный синдром) предотвращают развитие летальных поражений при “цитокиновой буре” и восстанавливают нарушенный гомеостазис. Вначале эти реакции являются защитными, однако при увеличении их продолжительности и амплитуды они становятся патологическими и вызывают “паралич” иммунной системы и развитие вторичных инфекций [725].

Развитие иммунного ответа при введении профилактических и лечебных вакцин также является одним из проявлений реакций сверхактивации (сверхкомпенсации).

При разработке стратегий адаптации при экстремальных воздействиях необходимо учитывать феномен гистерезиса. Он отражает задержку между воздействием и реакцией на это воздействие, то есть способность организма возвращаться в первоначальное состояние после прекращения действия раздражителя [585]. Эффект гистерезиса связан с тем, что организм «запоминает» первоначальное состояние, в котором он находился до воздействия, и возвращается в это состояние через некоторое время после прекращения этого воздействия. Сила и продолжительность действия раздражителя определяют выраженность и длительность гистерезисного ответа. Он определяет эффективность адаптационных реакций активации на уровне повышения транскрипции «белков выживания» (БТШ70) [585]. Кратковременные повторные циклы «ишемия-реперфузия» формируют долговременный защитный антистрессорный ответ, который может продолжаться в течение более 3 сут. после завершения действия раздражителя и сопровождается активацией синтеза защитных белков стресса – БТШ70 [585].

Эффект гистерезиса может быть использован для пролонгирования защитных реакций адаптации при экстремальных воздействиях, которые повышают резистентность организма [585].

1.2. Перспективные технологии медицинской защиты при экстремальных воздействиях

1.2.1. Защита от биопатогенов

Неопределенность потенциальных угроз диктует необходимость создания новых технологий экспресс-идентификации инфекционных агентов и биотоксинов, новых антибиотиков, защитных антител, высокоэффективных вакцин и технологий их ускоренного массового производства для обеспечения экстренной биозащиты больших контингентов военнослужащих и гражданского населения [730, 206, 228].

Для выполнения этих задач необходима интеграция результатов фундаментальных и прикладных исследований. Фундаментальные исследования направлены на изучение молекулярных механизмов взаимодействия биопа-

тогенов с организмом “хозяина” для определения ключевых направлений разработки средств защиты, выявления потенциальных целевых антигенов, повышения их иммуногенности и эффективности иммунного ответа. Прикладные — на создание технологий ускоренной разработки новых вакцин и быстрого развертывания их массового производства [730, 365].

Примером эффективной реализации этой стратегии является создание компаниями Pfenex и Xcellerex (США) биотехнологической платформы для ускоренной разработки вакцин и развертывания их производства в промышленных масштабах. Она включает разработку рекомбинантных вакцинных комплексов “БТШ70-авидин-биотин-целевой антиген”, селекцию штамма – гиперпродуцента полученной вакцины и ее ускоренную экспрессию в необходимом количестве в полимерных биореакторах одноразового применения с использованием технологии Flex Factory [209, 568].

Эта биотехнологическая платформа повышает способность противостоять современным угрозам и проводить экстренную биологическую защиту в группах риска. Разработана технология экспресс-диагностики биологических угроз, быстрой идентификации широкого спектра биопатогенов и определения за несколько минут их чувствительности к антибиотикам путем пьезоэлектрического измерения наноосцилляций бактерий, а также мониторинга уровня провоспалительных цитокинов и активированных клеток при сепсисе многоцелевыми биочипами с электрохимическими биосенсорами [657, 609].

Раневой сепсис и септический шок являются основными причинами смерти при боевой травме у военнослужащих. Летальность значительно повышается при наличии в ране устойчивых к антибиотикам штаммов биопатогенов. Ежегодно от осложнений сепсиса в мире погибает 6 из 18 миллионов пациентов. Решить проблему роста резистентности бактерий можно путем разработки новых антибиотиков или применения существующих препаратов в комплексе с серебром. Серебро более чем в 1000 раз повышает эффектив-

ность антибиотиков в борьбе с инфекциями, расширяет спектр их действия, в том числе и в отношении устойчивых штаммов патогенных микроорганизмов. Серебро резко повышает проницаемость клеточной оболочки бактерий и делает их более уязвимыми к антибиотикам. Применение ванкомицина в сочетании с серебром при сепсисе у мышей повышает их выживаемость до 90%, при использовании ванкомицина без серебра выживает только 10% животных [647]. Антибактериальный эффект серебра значительно повышается при использовании его в виде наночастиц [553]. Одним из ключевых механизмов биологической активности наночастиц серебра является индукция БТШ70 [507].

Альтернативным направлением повышения эффективности лечения сепсиса является создание специальных устройств для удаления из крови биопатогенов и биотоксинов [303, 338, 477; 261]. Агентство передовых оборонных исследовательских проектов США (DARPA) финансирует разработку многоцелевого портативного устройства для “очистки крови” от широкого спектра биопатогенов (проект HR0011-13-C-0023). Оно может за 24 ч удалить из крови более 90% агентов, которые вызывают развитие сепсиса и его осложнений – бактерии, вирусы, биотоксины, цитокины, активированные лейкоциты. Это существенно повышает эффективность защиты от возможных биотеррористических угроз и выживаемость при сепсисе. Быстрое очищение крови от биопатогенов, токсинов и цитокинов препятствует развитию “цитокиновой бури”, септического шока, позволяет многократно снизить летальность и материальные затраты на лечение сепсиса и его осложнений. Выведение из крови биопатогенов, токсинов, активированных клеток, экзосом и цитокинов осуществляют путем плазмафереза с использованием синтетических маннозосвязывающих лектинов, аптамеров, методов селективной адсорбции, акустофереза, диэлектрофореза и гравитационной сепарации компонентов крови [237].

При высокопатогенных бактериальных и вирусных инфекциях развивается “цитокиновая буря”, которая связана с гиперактивацией TLR и Fc-

рецепторов (CD16+, CD64+) клеток-эффекторов иммунного ответа [278, 293, 394, 289, 299]. Она определяет тяжесть течения сепсиса, развитие респираторного дистресс-синдрома (РДС) и полиорганной недостаточности [426]. Особое внимание привлекает роль цитокина позднего действия HMGB1 (амфотерина). Он высвобождается при некрозе клеток, а также активированными макрофагами и моноцитами, взаимодействует с TLR4, определяет развитие «цитокиновой бури» и прогноз течения высокопатогенных инфекций [699, 109, 398, 247]. HMGB1 и TLR4 также играют важную роль в развитии респираторного дистресс-синдрома (РДС) при длительном сдавливании мягких тканей [675], полиорганной недостаточности при геморрагическом шоке [493], поражении тканей и органов при радиационных воздействиях [632].

Подавление чрезмерной реакции на экстремальные воздействия, предотвращение развития «цитокиновой бури» и связанных с ней клинических синдромов является актуальной задачей медицины. Одним из путей ее решения может быть применение блокаторов TLR и Fc-рецепторов. Показан защитный эффект блокатора TLR4 эриторана при летальной гриппозной инфекции [688], блокаторов Fc-рецепторов – внутривенных IgG и С-реактивного белка при тяжелом сепсисе [430, 536, 702]. Активация Fc-рецепторов иммуноглобулинов играет существенную роль в патогенезе РДС [317]. Fc-рецепторы участвуют в реакциях элиминации бактериальных ЛПС [208]. Fc-гибридные белки применяют для защиты от бактериального сепсиса [464] и высокопатогенной гриппозной инфекции [221]. Антагонисты HMGB1 препятствуют развитию РДС и повышают выживаемость при сепсисе. К ним относят БТШ70 и его индуктор глутамин [371, 618], этилпируват [345], инсулин [425], низкомолекулярный гепарин [475], метформин [500], метотрексат [408], бутират натрия [654], урсоловую кислоту [714] и экстракт китайского лимонника [679].

При эндотоксическом шоке и сепсисе активация экспрессии БТШ70 препятствует развитию полиорганной недостаточности [718]. Индукторы БТШ70 глутамин [729], эхинохром [225], ингибиторы гистондеацетилазы

(бутират, фенилбутират) препятствуют эндотоксиновой агрессии и значительно повышают выживаемость при летальном септическом шоке [287].

Содержащий процианидины экстракт гребней винограда, женьшеня и куркумин являются антагонистами TLR4 и препятствуют развитию эндотоксинового шока и РДС при сепсисе и защищают организм от высокопатогенных вирусов гриппа [373, 370, 300, 424, 594]. Выявлен перекрестный защитный эффект экстракта женьшеня от H1N1 и H3N2 вирусов гриппа [595].

Введение малых доз бактериального ЛПС существенно повышает выживаемость животных при эндотоксическом шоке [587]. Разработаны анти-эндотоксиновые вакцины [298]. Экзополисахарид полученный при ферментации молока культурой *Lactococcus cremoris* и препарат «Панавир» на основе полисахаридов из проростков картофеля являются индукторами БТШ70, подавляют репликацию вирусов гриппа и повышают выживаемость при летальном гриппе у мышей [539, 24].

При разработке стратегии создания высокоэффективных вакцин необходимо учитывать низкую иммуногенность новых поколений вакцин и активировать перекрестный иммунный ответ против разных штаммов биопатогенов [366]. В настоящее время основным адъювантом вакцин является гидроксид алюминия, которая активирует только гуморальную ветвь иммунного ответа, вызывает нейротоксический эффект, способствует образованию амилоидных бляшек в головном мозге и развитию синдрома Альцгеймера [724, 700]. Это подчеркивает необходимость поиска новых высокоэффективных адъювантов вакцин. Одним из путей решения этой задачи является применение активаторов рецепторов врожденного иммунитета – нановезикул с химически модифицированным бактериальным ЛПС [219], агонистов TLR2 на основе моноациллипопептидов [305] и агонистов TLR4 в качестве адъювантов противогриппозных вакцин [220, 591].

Разработаны адъюванты вакцин на основе экстракта из пантов северных оленей [128], низкомолекулярного германийогранического соединения [4], легочного сурфактанта быка [427], сапонинов [341] микрочастиц поли-

лактат-гликолида [429], наночастиц кремния и оксида кобальта [646,222], производных фитола [368], левамизола [629], полисахарида Advax™ на основе инулина [203], бактерий-пробиотиков [461].

Адьювантный эффект акупунктуры обусловлен мобилизацией эндогенных БТШ70 [733]. Известно, что БТШ70 являются высокоэффективными адьювантами вакцин [262, 432, 383]. Продукт гибридизации БТШ70 с матриксным М2-белком вируса гриппа вызывает перекрестный защитный эффект от летальных доз Н1, Н3 и Н9 штаммов вируса гриппа [417]. Перекрестный (универсальный) защитный ответ при гриппозной инфекции может быть связан с активацией Fc-рецепторов IgG1 макрофагов и лимфоцитов [713]. Это согласуется с данными о наличии у иммуноглобулинов свойств адьювантов вакцин [450]. Установлено, что модификация вакцинного штамма вируса гриппа Н2Н2 вызывает перекрестный иммунный ответ против штаммов вируса гриппа Н2Н2 и Н5Н1[35]. Основой для получения средств перекрестной защиты от родственных штаммов вирусов и бактерий может быть экспонирование общих для них скрытых антигенных детерминант путем физической модификации микроорганизмов [642].

1.2.2. Противорадиационная защита

Увеличение числа радиационных инцидентов в результате техногенных аварий и стихийных бедствий диктует необходимость разработки новых высокоэффективных радиопротекторов массового применения для гражданского населения и военнослужащих [360, 320, 62, 143].

Наиболее актуальны два направления решения этой задачи : получение средств лечения тяжелых лучевых поражений и разработка препаратов для применения при длительных лучевых воздействиях малой интенсивности. На первом направлении представляется перспективным отечественный препарат беталейкин [596]. При однократном введении в течение 2 ч после облучения собак в смертельной дозе он не уступает по эффективности трехнедельному курсовому лечению препаратом Г-КСФ. Эффективность беталейкина усиливается при его сочетании с альфа-адреномиметиком индралином [62, 148]. В

настоящее время остается не решенной проблема создания высокоэффективных радиопротекторов пролонгированного действия.

В качестве радиопротекторов применяют природные и синтетические антиоксиданты: амифостин, производные гидроксилamina, липоевой кислоты, глутатиона, рекомбинантную супероксиддисмутазу, ацетилцистеин, ацетилцистеинамид, а также растворенный в питьевой воде молекулярный водород [608, 201, 435, 678]. Синтетический аналог супероксиддисмутазы подавляет развитие лучевого пульмонита у мышей [505]. Выявлен выраженный радиозащитный эффект ингибиторов синтеза эндогенного оксида азота (NO) на основе производных изотиомочевина [144], окисленного глутатиона [10], пептидов из селезенки сренеазиатской черепахи [708].

В патогенезе радиационных поражений органов и тканей существенную роль играют иммуновоспалительные реакции. Это связано со стресс-активацией клеток-эффекторов иммунного ответа и изменением уровня провоспалительных и противовоспалительных цитокинов при радиационных воздействиях [421]. Одним из направлений создания новых высокоэффективных радиопротекторов является блокада избыточной стресс-активации иммуновоспалительных реакций [444].

Сохранение функциональной активности рецепторов врожденного иммунитета (TLR4) является необходимым условием поддержания радиорезистентности организма. При γ -облучении мышей линии С3Н/HeJ (без TLR4) нарушения миелопоеза, иммунометаболических показателей и летальность значительно превышают показатели группы контроля.

Микробные ЛПС препятствуют снижению активности TLR4 рецепторов, которые играют ключевую роль в регуляции радиорезистентности организма [201]. Установлено, что бактериальные ЛПС, гиалуроновая кислота, лизофосфолипиды и гистамин являются радиопротекторами [623, 504, 607]. Агонисты TLR4 и TLR5 бактериальный ЛПС и флагеллин, а также активатор TLR2 липопептид из *Mycoplasma arginini* значительно повышают выживаемость и уменьшают выраженность синдромов лучевых поражений костного

мозга и желудочно-кишечного тракта при летальном общем γ -облучении мышей и приматов [232, 269, 277, 448]. Защитный эффект лигандов TLR может быть связан с тем, что они повышают уровень ГМ-КСФ и ИЛ-6 [409]. Пегилированный ГМ-КСФ пролонгированного действия является эффективным средством лечения нарушений кроветворения при лучевых поражениях [66]. Эпидермальный фактор роста предотвращает развитие миелодепрессии и значительно повышает выживаемость мышей при летальном общем γ -облучении [342]. Рекомбинантный ИЛ-12 значительно повышает выживаемость приматов, активирует гемопоэз и препятствует развитию иммунных нарушений при введении в течение 12 ч после общего γ -облучения в дозе 8-9 Гр [249]. Свойства радиопротекторов также выявлены у бактерий-пробиотиков *Lactobacillus rhamnosus* [449], наночастиц углерода фуллеренов [683] солей ванадия [655], селенотетрацистеина [47]. Мелатонин (N-ацетил-5-метокситриптамин) – перспективный радиопротектор для защиты от радиационных поражений при авариях на атомных энергетических установках [680, 226].

Ингибитор гистондеацетилазы фенилбутират, экстракты жень-шеня и растения *Rhodiola imbricate*, а также полисахаридно-белковый комплекс из гриба *Phellinus rimosus* являются индукторами БТШ70 и препятствует развитию радиационных поражений при общем γ -облучении экспериментальных животных [434, 393, 604, 482]. Результаты клинических исследований подтверждают экспериментальные данные о перспективности применения экстракта женьшеня (индуктора БТШ70) в качестве радиопротектора [605, 606].

Создана противорадиационная вакцина на основе выделенного из лимфы облученных животных радиотоксина (гликолипопротеида). Ее введение за 10–60 сут. до γ -облучения в летальных дозах обеспечивает выживаемость 95% экспериментальных животных [113]. Разработана гипериммунная сыворотка для перекрестной защиты организма от радиационных поражений и биопатогенов [29]. Получен полиантигенный комплекс на основе бактериального эндотоксина и радиотоксина. Антитела, полученные при иммунизации

этим полиантигеном животных, обеспечивают 70% выживаемость летально облученных γ -лучами животных [142]. Они существенно (до 75-80%) повышают выживаемость и уменьшают тяжесть поражений при изолированном летальном облучении экспериментальных животных γ -лучами, их заражении штаммом возбудителя эшерихиоза в дозе ЛД₁₀₀ и воздействии сочетания этих факторов (γ -лучи + E.coli) [117]. Сверхмалые дозы синтетического аналога хиноидного радиотоксина повышают устойчивость организма к радиационным воздействиям [21]. Это свидетельствует о том, что хиноидный радиотоксин участвует в активации реакций гормезиса. Некоторые производные природных хиноидных соединений являются индукторами защитных белков стресса – БТШ70 и обладают свойствами радиопротекторов [641].

Повышение радиационной резистентности клеток после облучения в малых дозах представляет собой реакцию адаптации. Это разновидность стресс-реакции клетки на внешнее воздействие. Облученная клетка переходит в состояние стресса и запускает механизмы повышения устойчивости к повреждающим воздействиям, в том числе и к радиационному. Феномен радиационного гормезиса представляет собой следствие реакции клеточного стресса [163]. Индукторы БТШ70 препятствуют развитию радиационно-обусловленного окислительного стресса и апоптоза моноцитов и Т-лимфоцитов крови [420, 592].

1.2.3. Защита от поражений при воздействии токсических веществ

Концепция общих механизмов токсического действия химических веществ базируется на представлении об универсальности реакций организма на воздействие токсикантов и об общих механизмах адаптации при действии на организм химических веществ [177].

Адаптация является основой защиты организма от вредного действия токсических веществ [164]. Изменение активности структур участвующих в адаптации к действию яда одновременно является индикатором вредоносного воздействия и показателем адаптивности организма.

Неспецифические механизмы патогенеза токсических поражений, развитие так называемого “токсического стресса” определяет необходимость применения средств перекрестной защиты (стресс-протекторов) – адаптогенов, актопротекторов, защитных белков стресса и их индукторов [148, 173, 39]. Установлен защитный эффект актопротекторов метапрота и этомерззола при отравлении ФОВ [29], актопротекторов на основе производных тиазоло-[5,4-b]индола (тиетазола) при токсическом отеке легких у мышей [103].

Содержащийся в экстракте хмеля ксантогумол активирует ферменты детоксикации токсических веществ, обладает цитопротективными свойствами и является индуктором БТШ70 [311, 319]. Индукция синтеза БТШ70 защищает организм животных от летальных токсических воздействий [668].

Индуктор БТШ70 глутамин, агонисты TLR — антистафилококковая вакцина и гликопротеин из экстракта растения *Zanthoxylum piperitum* DC препятствует развитию поражений вызываемых циклофосфаном [540, 453, 80]. Сернистый иприт вызывает реакцию клеточного стресса, которая сопровождается мобилизацией эндогенных БТШ70 и секрецией провоспалительных цитокинов [667]. Защитная реакция клеточного стресса в ответ на введение малых доз алкилирующих агентов препятствует развитию поражений при воздействии поражающих доз этих токсических веществ [670].

Показана эффективность раннего применения кортикостероидов и каталитического антиоксиданта AEOL-10150 на основе металлопорфирина при ингаляционном поражении ипритом [295, 706].

Известно, что активация Fc-рецепторов иммуноглобулинов играет важную роль в патогенезе токсических поражений, вызываемых ипритом и циклофосфаном [296, 301]. Это является основанием для назначения блокаторов этих рецепторов в ранней патогенетической терапии этих поражений.

Получены биокатализаторы деградации ФОВ в форме пенек, губок, гелей, микроорганизмы-суперпродуценты ферментов биodeградации ФОВ [541]. Разработаны нанокапсулы и наногубки для сорбции и каталитической

деградации токсических веществ. Для каталитической деградации ФОВ разработана рекомбинантная бутирилхолинэстераза [274, 542, 611] и препарат пролонгированного действия на основе конъюгата ацетилхолинэстеразы с полиэтиленгликолем [526].

Пульмонотоксиканты (фосген, окислы азота) вызывают токсический отек легких [210]. В его патогенезе важную роль играют активация Fc-рецепторов эпителиальных клеток легких [317], развитие тканевой лейкоцитарной инфильтрации в легких, «цитокиновой бури», индукция провоспалительных цитокинов – ИЛ-6 и HMGB1 [744, 371]. Развитие токсического отека легких подавляют антигипоксанты на основе конденсированных индолов [179], антиоксиданты [517], электрофильные соединения – гексаметилентетрамин, цистеин, глутатион [576] ингибиторы NO-синтазы [180] и трипсина [709], перфторан [685], низкомолекулярный гепарин [476], полифенолы–производные урсоловой и кофейной кислот [714, 496], индукторы БТШ70 [371, 685].

Для защиты от биотоксинов производят иммунизацию γ -облученным токсином змей и скорпионов. Токсичность облученного яда снижается на два порядка при сохранении иммуногенности. Иммунизация облученным ядом защищает от введения 10 LD₅₀ нативного яда. Защитный эффект сохраняется более 6 мес. [544, 462]. Защитные антитела можно получить из яиц кур после их иммунизации змеиным ядом [466, 524, 597] и ботулотоксином [339]. Разработана вакцина и защитные антитела от растительного биотоксина рицина [649, 294, 212].

1.2.4. Повышение устойчивости организма к массивной кровопотере, механической травме и экстремальным истощающим физическим нагрузкам

Повышение индивидуальной устойчивости к механической травме, массивной кровопотере и экстремальным физическим нагрузкам является актуальной задачей военной и экстремальной медицины [108, 188, 11, 125, 25]. Основной причиной смерти от ранений и травм в мирное и военное время является геморрагический шок, с ним связано развитие синдрома системного

воспалительного ответа и полиорганной недостаточности. Устойчивость к кровопотере повышают эритропоэтин [579], перфторан [23], защитный белок HDFx [224], некоторые полипептиды [188] и индукторы защитных белков стресса – БТШ70 [599, 717]. Они повышают выживаемость, препятствуют развитию геморрагического шока и его осложнений при массивной кровопотере.

Известно, что устойчивость к экстремальным воздействиям резко повышается у животных, находящихся в состоянии гипобиоза [133]. При смертельной кровопотере выживаемость повышается в три раза при введении организма в состояние гипобиоза. Этот эффект вызывают фармакологические препараты на основе ксенона, которые в два раза продлевают так называемый «золотой час» и обеспечивают выживание экспериментальных животных при смертельной кровопотере [135, 153]. Некоторые пептиды, в частности пептиды, выделяемые зимоспящими животными, могут повышать устойчивость организма к массивной кровопотере [115, 188].

В патогенезе почечной и печеночной недостаточности при длительном сдавливании мягких тканей важную роль играют иммуноцитокнины [3, 214].

Антитела к цитокину HMGB1 [676], защитный белок HDFx [224], антигипоксанты и другие препараты метаболического действия [55, 158, 54] эритропоэтин [630], перфторан [97] и дексаметазон [214] препятствуют развитию травматического токсикоза.

Экстремальные физические нагрузки могут приводить к развитию рабдомиолиза с последующим формированием синдрома острой почечной недостаточности [438]. Биохимическими маркерами повреждений мышц при интенсивных физических нагрузках являются повышение уровня КФК, ЛДГ, миоглобина, IL6, СРБ в плазме крови [297, 215, 265, 349, 589]. Эти критерии согласуются с изменениями показателей электромиографии [745].

Эндогенные БТШ70 активируют реакции защиты миоцитов при интенсивных физических нагрузках [546, 316, 704]. Уровень БТШ70 в крови – это

маркер адаптации высококвалифицированных спортсменов к физической нагрузке [37, 26, 682]. БТШ70 участвуют в восстановлении структурно-функциональной целостности мышц после экстремальных физических нагрузок [473]. Физические тренировки умеренной интенсивности повышают уровень БТШ70 в крови, который активирует мезенхимальные стволовые клетки и сателлитные клетки мышц и препятствует развитию их повреждений [501, 546, 316, 704, 527].

Мобилизация мезенхимальных стволовых клеток и сателлитных клеток мышц способствует увеличению плотности капиллярной сети и репарации повреждений мышц после интенсивных физических нагрузок [499, 321, 506].

Метаболический стресс при интенсивных физических нагрузках является фактором адаптации и сопровождается повышением уровня метаболитов – лактата и H(+), выбросом провоспалительных цитокинов, повышением уровня АФК [634]. Избыточное образование АФК при экстремальных физических нагрузках, вызывает активацию лейкоцитов, их миграцию в мышцы с образованием воспалительных клеточных инфильтратов [349]. Они содержат атипичные мононуклеары (широкоцитоплазменные “большие” активированные лимфоциты), нейтрофилы и макрофаги [455, 372].

Воспалительное повреждение мышц при физических нагрузках связано с активацией рецепторов Fc-фрагментов иммуноглобулинов на поверхности этих клеток [455]. Сывороточные иммуноглобулины взаимодействуют с Fc-рецепторами на поверхности активированных лейкоцитов, что препятствует воспалительному повреждению мышечной ткани при интенсивных физических нагрузках, развитию рабдомиолиза и является защитной антистрессорной реакцией, направленной на восстановление нарушенного гомеостаза [617, 431].

Однако, экстремальные физические нагрузки вызывают резкое снижение уровня антител в сыворотке крови [407]. «Феномен исчезающих антител» после экстремальных физических нагрузок зарегистрирован в качестве научного открытия [198]. Резкое снижение титра антител приводит к разви-

тию «иммунного паралича», синдрома «стрессорного иммунодефицита», который проявляется значительным повышением инфекционной заболеваемости (до 25 раз) [310, 116, 374, 684, 589]. Защитный эффект иммуноглобулинов при экстремальных физических нагрузках основан на связывании Fc-фрагментов антител с Fc-рецепторами лейкоцитов [431]. Применение молозива коров (с высоким титром иммуноглобулинов) и экстракта из *Polypodium leucotomos* значительно снижает риск развития инфекционных заболеваний при интенсивных физических нагрузках [656, 304, 323].

Актопротекторы повышают работоспособность, препятствуют повреждению мышц и развитию рабдомиолиза при экстремальных истощающих физических нагрузках [30]. В настоящее время в качестве актопротекторов применяют растительные адаптогены: женьшень [738], элеутерококк [229], родиолу розовую [286, 332, 734], китайский лимонник [442], экстракты из хмеля [588], мяты [495], оливок [570]; препараты животного происхождения: экстракты из молока [696], молозива [323], пантов оленей/маралов [22], бактиспорин [104], мелатонин [335]; синтетические препараты [30], медицинские газы ксенон [166] и H₂ [582], воздействие физических факторов: гипоксические тренировки [631]; лазерное излучение в красном и ИК диапазоне [613].

Сходство структуры молекулы синтетических актопротекторов на основе полигидрохинонов и индукторов БТШ70 на основе полигидронафтохинонов и дигидроантрохинонов позволяет предположить, что эти актопротекторы могут быть индукторами БТШ70.

Установлено, что известные адаптогены (женьшень, элеутерококк, родиола розовая) являются одновременно актопротекторами и индукторами эндогенных БТШ70 [218]. Актопротекторное действие кофеина также связано с мобилизацией БТШ70 из внутриклеточных депо [728].

Прижигание активных точек акупунктуры индуцирует выход из клеток эндогенных БТШ70 и препятствует развитию воспалительных поражений

мышц при интенсивных физических нагрузках [513]. Аналогичный эффект получен при использовании лазеров в ближнем ИК спектре [292].

Применение индукторов БТШ70 подавляет избыточное образование АФК, способствует восстановлению нарушенных функций нейтрофилов при экстремальных физических нагрузках [589].

Перспективы практического применения адаптогенов–индукторов БТШ70 ограничены тем, что они являются средствами накопительного действия, с отсроченным целевым эффектом. Профилактический их прием не всегда возможен. Активация восстановительного синтеза БТШ70 при истощении их эндогенных запасов занимает длительное время. Истощение внутриклеточных запасов защитных белков стресса после экстремальных истощающих нагрузок исключает возможность их дальнейшей мобилизации индукторами БТШ70 и диктует необходимость назначения заместительной терапии - введения экзогенных защитных белков теплового шока.

Короткий период полувыведения БТШ70 является основанием для разработки препаратов пролонгированного действия на основе рекомбинантных БТШ70.

Развитие «феномена исчезающих антител», синдрома стрессорного иммунодефицита потребления эндогенных иммуноглобулинов можно предотвратить путем введения экзогенных иммуноглобулинов. Противовоспалительный эффект экзогенных IgG связан с блокадой Fc-рецепторов активированных лейкоцитов при их взаимодействии с Fc-фрагментами антител [612].

Создание гибридного белка на основе БТШ70 и Fc-фрагмента IgG (Fc-БТШ70) позволит получить препарат «тройного действия» для восстановления и повышения работоспособности персонала при экстремальных воздействиях. Он позволяет пролонгировать актопротекторное действие БТШ70; предотвратить развитие воспалительных поражений мышц и феномена «исчезающих антител» (синдрома стрессорного иммунодефицита потребления иммуноглобулинов) путем блокады Fc-фрагментами IgG Fc-рецепторов на поверхности активированных лейкоцитов.

Создание препаратов БТШ70 пролонгированного действия на основе их конъюгатов с полиэтиленгликолем (ПЭГ) и Fc-фрагментом антител человека позволит увеличить время их полувыведения из организма в 10-50 раз и повысить фармакологический эффект БТШ70.

1.3. Защитные и патологические реакции при длительном поступлении в организм малых доз экотоксикантов

Экотоксические воздействия запускают программу реакций адаптации, которая включает следующие стадии: экскреторную, реактивную, депонирования, насыщения, дегенерации и дедифференцировки [145]. В экскреторной и реактивной стадиях активируются физиологические и патологические (воспаление) реакции элиминации токсинов и антигенов. В стадии насыщения происходит их депонирование в жировой ткани, которое предотвращает повреждение жизненно важных органов. В стадии дегенерации развиваются вторичные структурно-метаболические нарушения, затем появляются клетки с признаками дедифференцировки и малигнизации из-за накоплений нарушений в системе иммунной защиты и генотоксических эффектов [315].

Основная антигенная нагрузка приходится на слизистые оболочки ЖКТ. Нарушения их барьерных и биорегуляторных функций могут быть генетически детерминированы или возникать под влиянием ксенобиотиков и изменений эндоэкологии [267, 447].

Поступающие с водой и пищей липофильные экотоксиканты вызывают ксеногенизацию аутоантигенов путем перераспределения гидрофобных и гидрофильных участков на наружной поверхности биомембран. Лимфоциты, sensibilizированные к химически модифицированным аутоантигенам, участвуют в иммунных реакциях, направленных на сохранение антигенного состава организма (антигенного гомеостаза) что может вызвать эрозивно-язвенные поражения слизистых ЖКТ, реактивный гепатит и синтропические поражения других органов и тканей [99, 411].

Вызываемые ксенобиотиками иммунные и метаболические нарушения влияют на развитие, характер и прогноз течения заболеваний органов пищеварения. При длительном воздействии на организм химических загрязнителей повышается частота обострений хронических заболеваний органов пищеварения (желудка, печени, толстой кишки и поджелудочной железы) и хронических персистирующих инфекций, их течение принимает затяжной характер [661]. Заболевания органов пищеварения делят второе–третье место в структуре заболеваемости населения и военнослужащих в Российской Федерации. Они могут выходить и на первое место в экологически неблагоприятных регионах [73]. Средний многолетний уровень заболеваемости органов пищеварения у военнослужащих в 2,8 раза превышает аналогичный показатель у гражданского населения [73]. У сотрудников нефтеперерабатывающих предприятий иммунные нарушения сочетаются с ростом заболеваемости язвенной болезнью [65].

Электрофильные ксенобиотики снижают эффективность противогриппозных вакцин [423]. Перераспределение депонированных ксенобиотиков под влиянием вирусов способствует затяжному и прогрессирующему течению инфекционных заболеваний [614]. Экотоксиканты активируют латентные инфекции, неспецифические воспалительные реакции, подавляют клеточный иммунитет, способствуют развитию воспалительно-дистрофических поражений органов-мишеней, например печени [481, 661].

Определение состояния биологических мембран [184], изменений секреции цитокинов клетками-эффекторами иммунного ответа и экспрессии на их поверхности олигосахаридов, взаимодействующих с эндогенными и экзогенными лектинами можно использовать для прогнозирования развития иммунных нарушений при экотоксических воздействиях [187].

Ключевым механизмом действия малых доз ксенобиотиков является активация универсальной реакции клеточного стресса [489]. Длительная активация метаболизма клетки вызывает истощение ее компенсаторных функций и прогрессирование нарушений гомеостаза [490]. Хроническая инток-

сикация ХАУ формирует состояние длительного функционального напряжения систем детоксикации организма и приводит к состоянию декомпенсации [50].

Обращает на себя внимание синдромное сходство реакции организма на длительное персистирование диоксина в организме (период полувыведения 7–10 лет) и хронического воздействия типового стрессора, микробного ЛПС [489]. Эндотоксин одновременно является фактором адаптации и повреждения. В малых концентрациях он полезен, а увеличение его концентрации (эндотоксиновая агрессия) – универсальный фактор патогенеза инфекционных и многих неинфекционных заболеваний [72, 200].

Общий адаптационный синдром, характерный для длительного воздействия малых доз экотоксикантов и малых концентраций эндотоксина – это проявления хронической универсальной клеточной стресс-реакции. В ее второй фазе развивается декомпенсация – снижение реактивности организма из-за повреждения иммунных и метаболических механизмов поддержания гомеостаза и развития дефицита биологически активных соединений [167].

Гомеостатические белки, например БТШ70, защищают клетки от повреждающих воздействий [130]. Повышение уровня защитных БТШ70 отражает адаптационный ответ организма на экотоксический стресс [381]. БТШ70 является адьювантом вакцин [68, 545, 549, 707, 406].

Установлено однонаправленное действие бактериального эндотоксина (ЛПС) и экотоксикантов (ПАУ) на уровень БТШ70 в мононуклеарных клетках периферической крови: стимуляция его синтеза в малых дозах и подавление при увеличении их дозы и времени экспозиции [490]. В торпидной фазе стресса содержание БТШ70 снижается в среднем в 3 раза. Благоприятный прогноз заболевания характеризуется повышением уровня БТШ70 [635].

Действие активных форм кислорода (АФК) в зависимости от их концентрации может быть как физиологическим так и токсическим. В малых концентрациях они играют роль сигнальных молекул, которые опосредуют действие активирующих стресс-факторов, защищают клетки от окислитель-

ного стресса и восстанавливают окислительно-восстановительный баланс клетки [32, 487]. Малые концентрации H_2O_2 (1-10 мкмоль/л) играют роль сигнальных молекул в межклеточных взаимодействиях [362].

Положительная роль малых концентраций CO в качестве сигнальной молекулы и его токсическое действие в высоких концентрациях является примером гормезиса [633]. Редокс-биомолекулы (CO, NO, H_2O_2), участвующие в регуляции систем внутриклеточной и межклеточной сигнализации, в миллимолярных концентрациях обладают токсическими свойствами, а в микромолярных – стимулируют функции клеток иммунной системы, секрецию ими цитокинов [59].

Активация клеток и синтез БТШ являются маркерами субтоксического длительного воздействия ксенобиотиков [628, 381]. Выявление метаболической активации (гормезиса) при хроническом воздействии малых доз ксенобиотиков согласуется с гипотезой общей (базовой) токсичности, в соответствии с которой различные ксенобиотики повреждают одни и те же жизненно важные (базовые) функции, общие для всех клеток. Повышение уровня БТШ70 в клетке является маркером повреждений и, одновременно, фактором защиты при экотоксических воздействиях [309, 413, 668].

Малые дозы экотоксикантов активируют ферменты восстановительного обмена, повышают активность ГТФ, ГП, ГР, уровень восстановленного глутатиона [257, 389]. Однако длительный (более 13 недель) прием диоксина в дозе 0,15 нг/кг в день, наоборот, снижает уровень восстановленного глутатиона и повышает концентрацию супероксиданиона [648]. Система глутатиона защищает слизистую оболочку желудка и кишечника от повреждения активными формами кислорода и электрофильными соединениями; ее активность резко повышается при неосложненном течении и снижается при затяжных и осложненных формах язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки [14, 165, 288].

Низкомолекулярные олигосахариды проникают через слизистые барьеры ЖКТ и повышают активность натуральных киллеров, обеспечивающих

элиминацию биопатогенов и модифицированных ксенобиотиками собственных антигенов [566]. Защитные олигосахариды могут быть получены из полисахаридов цитрусового пектина при их модификации γ -лучами [231].

Длительное воздействие малых доз ксенобиотиков вызывает накопление в клетках «биомусора» – белков с нарушенной структурой и поврежденных биомолекул. Этому препятствуют молекулярные шапероны (БТШ70), которые образуются в ответ на появление поврежденных белков и активируют аутофагию [436].

Аутофагия – это реакция адаптации к изменяющимся условиям внешней среды, которая обеспечивает удаление поврежденных структур клетки, а также ее питание из эндогенных источников. Она способствует сохранению внутриклеточного гомеостазиса за счет утилизации избыточных, изношенных и поврежденных функционально неполноценных клеточных структур и очистки клеточного детрита. Эти структуры изолируются от остальных частей клетки посредством аутофагосом [101]. Аутофагия способствует также элиминации собственных антигенов с поврежденной молекулярной структурой, что ведет к восстановлению антигенного гомеостазиса и сохранению толерантности к собственным антигенам [479].

При умеренной интенсивности и продолжительности токсических воздействий адаптивная реакция по «безвредной» утилизации токсичных продуктов, образующихся в клетках при интоксикации, происходит путем активации аутофагии. При нарастании интенсивности и длительности интоксикации эффективность аутофагии снижается, и не обеспечивает сохранение гомеостазиса. Ее несостоятельность способствует накоплению цитотоксических агрегатов белков в клетках и их гибели [244].

Клеточный стресс – это ответ на появление развернутых белковых структур. Он проявляется активацией синтеза молекулярных шаперонов и шаперон-зависимой аутофагии (ШЗА). ШЗА – «самоочищение» и обновление клеток с участием молекулярных шаперонов, выведение из них поврежденных и токсичных биомолекул. Необходимым условием для развития ШЗА

является повышение уровня БТШ70 [742]. Снижение экспрессии БТШ70 подавляет ШЗА, способствует накоплению токсических агрегатов белков в клетках и их гибели. Повреждения структуры белков запускают ШЗА, которая способствует восстановлению нарушенного белкового гомеостаза – протеостаза [474].

Иммунотоксический эффект электрофильных ксенобиотиков (диоксин, тиокарбаматы и др.) проявляется снижением количества и активности НК, ДК, Т-лимфоцитов [337, 376, 238, 456]. У лиц, проживающих в условиях химического загрязнения снижена активность Т-клеточного и гуморального звеньев иммунитета [1, 36].

Установлено, что ксенобиотики изменяют течение язвенной болезни [65] и персистирующего гепатита [661].

Анализ данных литературы дает основание предполагать, что ключевым механизмом, определяющим клиническую картину последствий длительных экотоксических воздействий, является развитие функциональной недостаточности АПК и клеточного иммунодефицита.

Рецидивирующие вирусные инфекции достоверно чаще развиваются у лиц с исходно «скомпрометированной» иммунной системой, проживающих в экологически неблагоприятных регионах, работающих в условиях профвредности. У них часто отмечается недостаточность эффекторной функции фагоцитов и АПК [75]. Диоксин способствует реактивации латентной CMV инфекции и развитию оппортунистических инфекций [516].

При гриппе диоксин на 70% уменьшает количество специфичных противовирусных CD8⁺ Т-клеток и переводит их в состояние анергии [503]. Прогрессирующее течение хронического вирусного гепатита у носителей HCV и HBV отмечается у лиц, подвергавшихся воздействию ионизирующего излучения и ксенобиотиков [67, 359, 481].

Снижение эффективности лечения хронического гепатита В и С у ветеранов армии США связано с функциональной недостаточностью ДК [472,275]. У лиц, подвергавшихся длительным экотоксическим нагрузкам

чаще встречаются заболевания органов пищеварения, эрозивные и явенные процессы в слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки, изменяется частота и длительность обострений язвенной болезни [196].

У курильщиков со стажем курения более 10 лет увеличивается продолжительность и частота рецидивов язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки. Содержащий ПАУ табачный дым снижает уровень внутриклеточного глутатиона и других антиоксидантов, которые нейтрализуют свободные радикалы [485]. Он тормозит рубцевание язвенного дефекта СОЖ, способствует затяжному течению язвенной болезни, тормозит миграцию и пролиферацию иммунокомпетентных клеток [645].

Специфических клинических проявлений, иммунных и метаболических нарушений, характерных для длительного воздействия малых доз экотоксикантов, не выявлено. Однако комплексный анализ динамики клинических и лабораторно-инструментальных данных позволяет установить сочетания признаков, необходимые для формирования групп повышенного риска возникновения заболеваний. Их углубленное обследование, проспективный и ретроспективный анализ развития иммунных и метаболических нарушений может быть основой для разработки адекватных профилактических и лечебных мероприятий.

1.4. Профилактика и лечение иммунных и метаболических нарушений связанных с воздействием экотоксикантов

Для предотвращения поступления ксенобиотиков с питьевой водой применяют различные способы ее очистки, основанные на окислительной деструкции органических соединений (озонирование, электролиз, обработка ультразвуком, ультрафиолетовым излучением, каталитические реакции), а также путем использования вымораживания, ионообменных смол, угольных и других фильтров [558, 559, 488].

Разработано несколько способов уменьшения содержания ксенобиотиков в пище: обезжиривание рыбы и мяса путем термической обработки с хи-

тозаном [157], а также особая термическая обработка мяса, сопровождающаяся обезжириванием [580].

Разработан фильтр, удаляющий из табачного дыма полициклические ароматические соединения [560]. Показана эффективность использования особой формы углерода – фуллеренов для сигаретных фильтров [17], которые благодаря особенностям своей молекулярной структуры являются высокоэффективными сорбентами диоксиноподобных соединений [470].

Для выведения ксенобиотиков применяют энтеросорбенты – пектины и альгинаты на основе морских трав и водорослей (спирулины, хлореллы, зостеры), производные хитина, белую глину, полифепан [233, 511]. Также используют каталитические механизмы с применением производных гемато-порфирина, хлорофиллина и витамина В₁₂ [510].

Показана эффективность физических методов выведения ксенобиотиков из организма – сауны в сочетании с нанесением на кожу активированного угля и других сорбентов, стимуляция экскреции ПХУ соляными железами при гипертермии в песочной ванне [169, 410, 470], применение минералов, излучающих в дальнем инфракрасном диапазоне электромагнитного спектра [556].

При невозможности предотвратить поступление ксенобиотиков или осуществить их выведение из организма основной задачей является адаптация организма к экотоксическим нагрузкам для сохранения гомеостаза.

В зависимости от длительности экотоксических воздействий и показателей индивидуальной реактивности организма могут применяться средства противонаправленного действия, такие как блокаторы и стимуляторы рецепторов, антиоксиданты и прооксиданты, иммуностимуляторы и иммуносупрессоры. С этой концепцией согласуется «парадоксальный» терапевтический эффект прессорных соединений при артериальной гипертензии, антагонистов инсулина при сахарном диабете, гипоксических тренировок при ИБС [263], а также эффективность средств с противоположно направленным дей-

ствием: H₂-блокаторов и гистамина, адrenoблокаторов и предшественника катехоламинов L-DOPA в разные фазы язвенной болезни [191]. «Парадоксальная» эффективность средств, функционально сходных с фактором патогенеза заболевания, указывает на то, что они активируют механизмы адаптации и компенсации функции, нарушенных при длительном воздействии этого фактора [650]. Это дает основание для применения веществ, действующих на рецепторы ПАУ в качестве адаптогенов, например полифенолов (ресвератрол). В микромолярных концентрациях ресвератрол препятствует реализации токсического эффекта экотоксикантов [181, 621, 720, 619], развитию токсических поражений печени и почек [616, 620]. Изменение его дозы может вызывать переключение направленности реакции организма, например, с активации на торможение функциональной активности Т-лимфоцитов [336].

Известно, что ресвератрол, гидрокситирозол, изотиоцианаты, гумулон и урсоловая кислота являются фитоалексинами – электрофильными полифенолами, которые защищают растения от фитопатогенов и факторов абиотического стресса. Фитоалексины – это продукты стресс-активации растительных клеток, которые образуются в ответ на повреждения клеточных структур при экстремальных воздействиях и запускают реакции клеточного стресса, механизмы антистрессорной клеточной защиты- гормезиса.

Прием с пищей продуктов стресс-активации растений запускает реакции защитного адаптационного клеточного ответа у животных. Стимуляция защитных механизмов клеток организмов животных ксеногенными по отношению к ним продуктами стресс-активации растительных клеток получила название «ксеногормезис» [375]. Пищевые фитоалексины активируют реакции защиты животных от экстремальных воздействий. Молекулярный механизм защитного эффекта электрофильных полифенолов (фитоалексинов) включает индукцию защитных белков стресса, «белков выживания» – БТШ70 [528, 515].

Использование феномена ксеногормезиса может быть использовано для коррекции иммунных и метаболических нарушений при воздействии на организм ксенобиотиков (химических загрязнителей – экотоксикантов).

Факторы абиотического стресса и ферменты фитопатогенов разрушают полисахариды клеточных стенок растений, что приводит к образованию олигосахаридов, сигнальных молекул повреждения – *элиситоров*, которые индуцируют синтез факторов защиты растений – *фитоалексинов* [345].

К элиситорам также относят салициловую, масляную, жасмоновую и абсцизовую кислоты. Салициловая кислота и ее ацетилированная форма (аспирин) играет важную роль в регуляции реакций защиты растений и животных при экстремальных воздействиях [403, 652].

Защитные реакции клеточного стресса можно запустить при введении экзогенных элиситоров, имитации повреждения эндогенных биомолекул путем их физической или химической деградации, модификации растительного или животного сырья.

Обработка пектина ультразвуком, импульсными электрическими высоковольтными воздействиями и высокоинтенсивным ионизирующим излучением (500 кГр) позволяет получить низкомолекулярные олигосахариды со свойствами сигнальных молекул элиситоров - индукторов фитоалексинов и иммуностимулирующими свойствами [557, 716, 361, 480, 334, 712, 363]. Низкомолекулярные фруктоолигосахариды и фукоидан также были получены путем воздействия высокоинтенсивного γ -излучения на немодифицированные биоматериалы [664, 284]. Олигосахариды, полученные из гепарина, исландского мха *Cetraria Islandica*, *Aloe vera* ускоряют заживление язв желудка [445, 457]. Выявлены противовоспалительные свойства полученных из хитина крабов хитоолигосахаридов [71]. Показана антиоксидантная активность низкомолекулярных производных, полученных при ультразвуковой обработке пектина из морской травы *Zostera* [186].

Установлено, что свойствами элиситоров обладают низкомолекулярные гидролизаты белков растительного и животного происхождения [70,

727], лизат бактериальных клеток [276], диализат мембран лейкоцитов – трансфер-фактор «ТрансфенонTM» [250], пиролизат из тканей животных – адаптогенный препарат Дорогова (АСД) [46]. Они способствуют активации защитных механизмов клетки при экстремальных воздействиях.

Вышеуказанное стало основой для проведения нами исследований по модификации полисахаридов и стресс-активации клеточных культур с использованием ультразвука, лазерного излучения и пучка электронов для получения перспективных средств активации защитных механизмов клетки при экстремальных воздействиях, в том числе при длительном воздействии на организм малых доз химических загрязнителей – экотоксикантов.

Лактосодержащие бактерии стимулируют дифференцировку дендритных клеток ЖКТ, секрецию активирующих клеточный иммунитет цитокинов [285], а также синтез БТШ70 [548]. Применение культур бифидобактерий и лактобактерина способствует эндоэкологической иммунореабилитации городского населения [81].

Перспективным направлением коррекции иммунных нарушений, возникающих при воздействии экотоксических нагрузок, является использование средств, способствующих восстановлению функций АПК, цитотоксической активности НК, клеточного иммунитета, уменьшающих избыточную продукцию провоспалительных цитокинов и АФК.

Другим путем решения этой задачи является повышение иммуногенности антигенов путем их модификации при воздействии химических, физических и биологических факторов.

Высокая реактогенность продуктов микробного происхождения и токсичность химических соединений ограничивают возможности практического применения химического и биологического факторов для модификации антигенов. Для решения этой задачи используют физические воздействия. Модификации высоким гидростатическим давлением (ВД) [1200-1500 атм] повышает образование иммуногенных кластеров на поверхности мембран кле-

ток-мишеней и значительно усиливает целевой иммунный ответ [642]. Обработка ультразвуком также повышает иммуногенность вакцин за счет изменения степени их гликозилирования и способности связываться с лектинами [711].

В основе модификации биомембран ультразвуком лежит кавитационный эффект с образованием ударной волны. Для повышения иммуногенности антигенов биомембран можно использовать не только ВГД, кавитационный, но и светогидравлический эффект. Он заключается в возникновении ударной волны при действии импульса высокоинтенсивного лазерного излучения на поверхность жидкости. Взрывное вскипание поверхностного слоя жидкости толщиной 0,5–1,0 мкм вызывает образование ударной волны в остальном ее объеме. Энергия светогидравлического удара зависит от спектра поглощения жидкости, продолжительности импульса и диаметра лазерного пучка [159].

Установлено, что пробиотик «Эубикор» способствует элиминации таких ксенобиотиков, как бензол, бутанол, формальдегид. Он также активизирует антиокислительные ферменты СОД и каталазу, уменьшает сроки купирования клинических проявлений ЯБЖ. Такие свойства имеют «Лактулоза» (галактозил-фруктоза), пектины, некоторые полисахариды и олигосахариды [138].

В заживлении язвенного дефекта важную роль играет активация синтеза БТШ в СОЖ, что является основой для назначения его индукторов [351, 643; 662, 418, 624, 382]. Содержание БТШ70 в периульцерозной зоне повышается при рубцевании экспериментальной язвы желудка, его индуктором является противоязвенный препарат карбеноксалон [518,428]. Установлена положительная корреляция скорости рубцевания ран в зависимости от содержания в них БТШ70, снижение его уровня в длительно не заживающих ранах [532].

При заживлении экспериментальной язвы желудка повышается уровень БТШ70 в периульцерозной зоне. Противоязвенные препараты омега-

зол, ранитидин и карбеноксалон являются индукторами синтеза БТШ70 [518, 428, 330]. Глутамин, индуктор БТШ70, препятствует реализации повреждающего действия эндотоксинов на органы и ткани [681].

В 85% случаев при язвенной болезни отмечается недостаточность Т-клеточного звена иммунитета и функциональной активности нейтрофилов. Базисная терапия не приводит к нормализации иммунного статуса, что способствует развитию рецидива заболевания через 3–6 мес. Применение лейкоинферона ускоряет наступление клинической ремиссии в 4 раза, а эндоскопической – в 3 раза, снижает частоту рецидивирования с 46,6 до 6,6% в год и удлиняет сроки ремиссии в 2,5–3 раза [152]. Введение лейкоцитарной сыворотки (продукт активации лейкоцитов из крови пациента) также повышает эффективность лечения язвенной болезни [8].

Наличие иммунных механизмов ульцерогенеза обосновывает применение иммунотерапии при язвенной болезни [132]. Омепразол способствует восстановлению активности клеточного звена иммунитета, нарушенного при язвенной болезни. Иммуномодуляторы имунофан и Т-активин – повышают активность клеточного звена иммунитета у больных язвенной болезнью [114].

Важную роль в патогенезе язвообразования играет активация так называемого «кислородного взрыва» в нейтрофилах; его подавление играет важную роль в механизме действия противоязвенных средств [644, 658]

Облучение периульцерозной зоны лучами лазера с активными средами на парах меди ускоряет рубцевание длительно нерубцующихся язв желудка [95, 168]. Показана эффективность высокоэнергетического лазерного излучения в лечении хронических торпидно текущих язв желудка и 12-перстной кишки: в 87% наступает ремиссия. У 105 больных с резистентными к традиционной терапии язвами желудка применяли местное лечение излучением лазера на парах меди при ежедневном воздействии – заживление язвенного дефекта наступило через $15,4 \pm 2,0$ дней, при режиме воздействия 2 раза в не-

делю – за $24,1 \pm 2,3$ дня. У 42,5% больных ремиссия была более 5 лет [106, 139].

Адаптогены повышают резистентность организма к экотоксическим воздействиям [207]. Стабилизация мембранных структур и повышение их резистентности к неблагоприятному действию ксенобиотиков являются основой действия полифенольных адаптогенов, препаратов метаболитического действия и гипоксических тренировок [195]. Адаптогенный эффект экстракта из туники асцидии (хаурантина) связан с тем, что он в два раза уменьшает продолжительность гексеналового сна [87]. Установлено участие БТШ70 в механизмах реализации биологического эффекта адаптогенов [218]. Природные адаптогены: родиола розовая, лимонник китайский, элеутерококк и их структурный аналог тирозол повышают устойчивость к действию токсических веществ, препятствуют развитию иммунных и метаболических нарушений и обладают противоязвенными свойствами [78].

В соответствии с концепцией экологической вакцинологии длительное воздействие на организм субтоксических доз ксенобиотиков снижает эффективность вакцинопрофилактики и вакцинотерапии из-за истощения адаптационного потенциала и функциональной активности системы иммунного надзора организма [586, 248, 423].

Это ставит задачу поиска новых путей повышения эффективности вакцин. Известно, что эффективность применения вакцин повышается при предварительном кратковременном воздействии на организм различных стресс-факторов умеренной интенсивности, а также при приеме адаптогенов [308, 737, 322]. Однако истощение адаптационного потенциала клеток является основанием к прекращению использования адаптогенов и стимулирующих воздействий и переходу к «протезированию» нарушенных функций адаптации клетки.

Для повышения эффективности лечения хронических персистирующих инфекций у лиц с иммунными нарушениями обусловленными воздействием экотоксических нагрузок могут быть использованы лечебные вакцины. Пока-

зана эффективность лечебных вакцин при хроническом гепатите С [735], герпетической инфекции [395], а также при многих соматических заболеваниях, в частности, при бронхиальной астме [283] и гипертонической болезни [18]. Они могут снизить риск развития инфаркта миокарда у больных ИБС [Ошибка! Источник ссылки не найден., 422].

Исследования последних лет показали перспективность использования лечебных вакцин для лечения опиатной, кокаиновой и никотиновой зависимости [174, 268, 443], а также для защиты от токсинов, опасных химических соединений и биопатогенов; разработаны вакцины против бактериального эндотоксина (ЛПС), энтеротоксина, гемолитического стрептококка, рицина [190, 574, 562, 213, 677].

В иммунопрофилактике и иммунотерапии патологических состояний, вызываемых ксенобиотиками и биопатогенами показан эффект пептидных биорегуляторов [659]. Они препятствуют развитию иммунных нарушений и патологических состояний, вызываемых ксенобиотиками [76].

Экзогенные и эндогенные БТШ повышают толерантность клеток к стрессорным воздействиям, препятствуют развитию патологических изменений в организме при действии токсических веществ [460].

Пероральный и интраназальный прием препаратов на основе бактериальных БТШ активирует синтез противовоспалительных цитокинов и может быть использован для лечения хронических воспалительных и аутоиммунных заболеваний [312], а также для повышения эффективности вакцин [94; 383]. *Lactobacillus brevis* индуцирует секрецию БТШ70 клетками слизистой оболочки кишечника. Это способствует повышению барьерных свойств слизистых, подавляет избыточную секрецию провоспалительных цитокинов [385]. Бактериальные ЛПС усиливают защитный эффект БТШ70 [9, 146]. Наличие ЛПС необходимо для экспрессии БТШ70 в слизистой кишечника, которая подавляется при деконтаминации и восстанавливается при пероральном приеме препаратов на основе бактериальных ЛПС [217]

Используют физические методы индукции БТШ в органах и тканях – воздействие электромагнитных волн [419], лазерного излучения [395] прогревание тканей в области «активных» точек с помощью полынных сигар [441], гипербарическая оксигенация [387] гипобарическая и нормобарическая гипоксия [713, 245]. Воздействие лазерного излучения на СОЖ способствует заживлению гастродуоденальных язв [189].

Заключение:

Реакции клеточного стресса в ответ на экстремальные воздействия (биопатогены, радиация, токсические химикаты, экотоксиканты, истощающие физические нагрузки, массивная кровопотеря, длительное сдавление мягких тканей и др.) – могут быть защитными и патогенными. Сила и продолжительность действия раздражителя определяют направленность и течение этих реакций. В их регуляции существенную роль играют рецепторы врожденного иммунитета и Fc-рецепторы иммуноглобулинов. Лиганды этих рецепторов являются перспективными средствами перекрестной защиты от различных экстремальных воздействий. Особое внимание привлекают нетоксичные производные бактериальных ЛПС и защитные белки стресса — БТШ70. Модификацию ЛПС и мобилизацию из клеток эндогенных БТШ70 осуществляют с использованием высокоинтенсивных импульсных физических воздействий. Перспективным является применение экзогенных рекомбинантных БТШ70, их производных пролонгированного действия – конъюгатов БТШ70 с полиэтиленгликолем и гибридных белков на основе БТШ70 и Fc-фрагментов человеческих антител. Анализ развития реакций клеточного стресса, изменений их направленности и выраженности позволяет выбрать оптимальную стратегии защиты от экстремальных воздействий.

Длительное поступление в организм малых доз экотоксикантов вызывает перманентную активацию реакций клеточной адаптации (гормезиса) с последующим истощением компенсаторных функций и формированием устойчивого патологического состояния. Развивается функциональная недоста-

точность АПК и клеточного звена иммунитета. Экотоксические нагрузки вызывают иммунометаболические нарушения, которые играют важную роль в патогенезе хронических заболеваний, в частности, болезней органов пищеварения.

Разработка новых стратегий медицинской защиты от экстремальных воздействий, коррекции иммунных и метаболических нарушений при длительном поступлении в организм малых доз экотоксикантов является предметом настоящего исследования.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ НАУЧНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена в ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны РФ. Исследование проводили в период с февраля 1996 по сентябрь 2017 года. Экспериментальные исследования выполнены на 3450 белых мышах линии СВА, 240 мышей линии Balb, 120 мышей линии СЗН/HeJ (без TLR4 - рецепторов), 380 крыс линии Вистар из питомников РАН и РАМН «Рапполово» и «Пушино».

Клинические исследования выполнены у 326 сотрудников нефтеперерабатывающего предприятия (г. Кириши Ленинградской области), 136 больных язвенной болезнью желудка. Группа контроля – сотрудники строительного концерна «Титан-2», Ленинградская область (116 чел). В 442 ОВКГ, клиниках общей терапии №1 и военно-полевой терапии ВМА им. С.М. Кирова проводили обследование и лечение 56 больных длительно не рубцующимися (более двух месяцев) язвами желудка и 136 пациентов с обычным течением язвенной болезни. Лазером на парах меди облучали периульцерозную зону через инструментальный канал эндоскопа. Основная группа – 29 чел., группа контроля – 27 чел. Плотность потока энергии 1,5 Вт/см², время облучения 60–120с, два сеанса в неделю (2–7 на курс лечения). БТШ70 определяли в биоптатах слизистой оболочки желудка в зоне облучения с использованием набора антител лаборатории защитных механизмов клетки института цитологии РАН, г.Санкт-Петербург. Обследование больных включало общеклинические, биохимические и инструментальные методы диагностики заболеваний органов пищеварения в соответствии с общепринятыми стандартами.

БТШ70 получен из лаборатории защитных механизмов клетки НИИ цитологии РАН. Модификацию БТШ70 осуществляли путем его конъюгации с полиэтиленгликолем и слияния с Fc-фрагментом IgG человека (патенты США 9217018; 9937241). Бактериальные ЛПС модифицировали путем электронно-лучевой обработки исходного сырья с последующим фракционирова-

нием методом ультрафильтрации (патент РФ №2662916). ЛПС обрабатывали пучком электронов в дозе 100-150 кГр с использованием широкоапертурного ускорителя электронов, разработанного в НИИ электрофизической аппаратуры (г. Санкт-Петербург).

2.1. Методы оценки эффективности физической модификации биообъектов.

Установки для физической модификации биоматериалов представлены на рисунках 1–6.



Рисунок 1 Установка на основе CO₂-лазера для осуществления фотохимической модификации биоматериалов.



Рисунок 2 Лазер с активными средами на парах меди для активации клеток-эффекторов иммунной системы кожи.

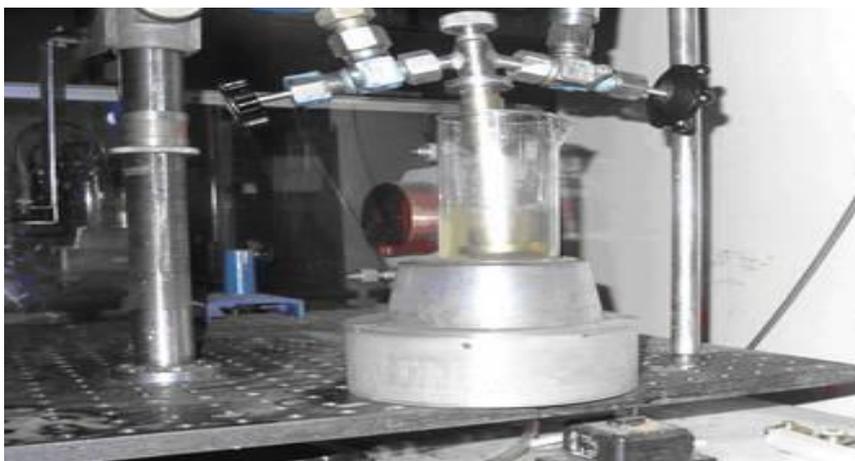


Рисунок 3. Установка для модификации биоматериалов путем их пропускания под повышенным давлением через профилированные сопла Лаваля



Рисунок 4. Установка для модификации биоматериалов под действием ультразвука

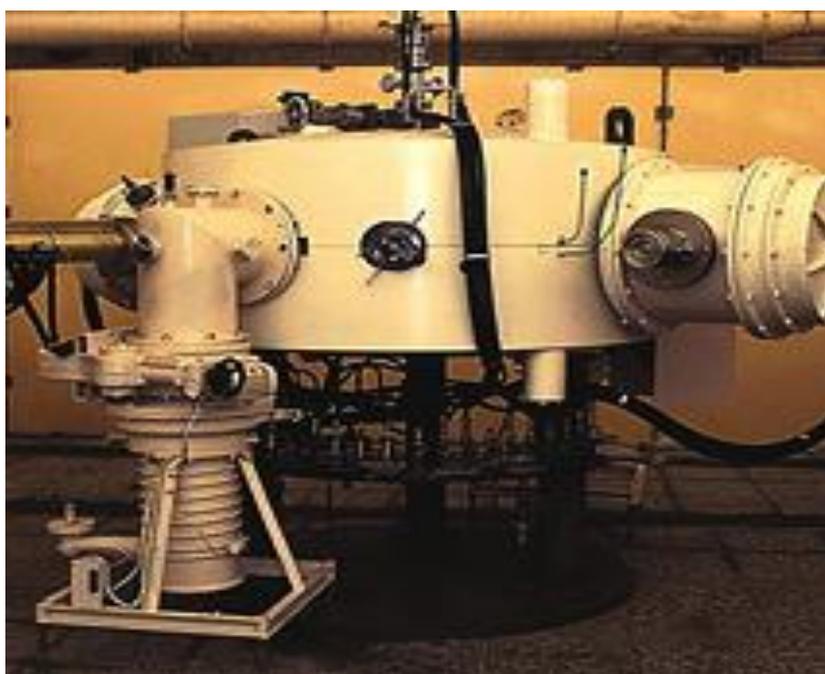


Рисунок 5. Широкоапертурный ускоритель электронов для модификации биоматериалов



Рисунок 6. Генератор наносекундных высоковольтных электрических импульсов для активации и модификации биообъектов

Основой для проведения прикладных исследований по активации и модификации биообъектов были физико-математические модели, полученные при анализе результатов экспериментальных исследований гидродинамических процессов при импульсных воздействиях на биообъекты в жидкости. Моделирование гидродинамических процессов в водной среде при ее прохождении через конические сопла под давлением и взаимодействии падающей капли с лучом лазера показало, что в конусе сопла образуются две зоны с сильной неоднородностью параметров - аномально высокая локальная скорость жидкости и разрежение газа. В кавитационных областях достигаются максимальные скорости деформации воды, что сопровождается импульсным гидродинамическим воздействием на биообъекты в этой жидкости.

На рисунках 7, 8 представлены результаты математического моделирования гидродинамических процессов в потоках воды с большими величинами скорости деформации, создаваемых коническим соплом. Показаны расчетные распределения осевой скорости потока, статического давления, объемной доли паровой фазы и десятичного логарифма от скорости деформации среды. Расчеты проведены для сопла диаметром 0.5 мм, переходящий в конус с полным углом расширения $\alpha=60^\circ$. На входе в сопло задается избыточное полное давление $7 \cdot 10^5$ Па, начальное давление в сопле равно 10^5 Па. В конусе сопла

образуются две зоны с сильной неоднородностью газодинамических параметров – аномально высокая локальная скорость жидкости и разрежение газа до $2 \cdot 10^4$ Pa. С распределением давления согласуется распределение паровой фазы. В кавитационных областях достигаются максимальные скорости деформации, которые обеспечивают высокую эффективность модификации биообъектов.

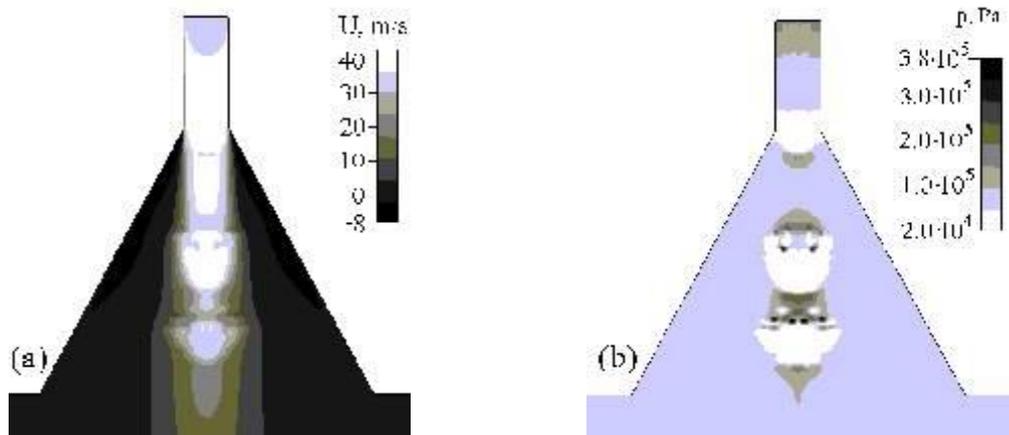


Рисунок 7. Осевая скорость (a) и статическое давление (b)

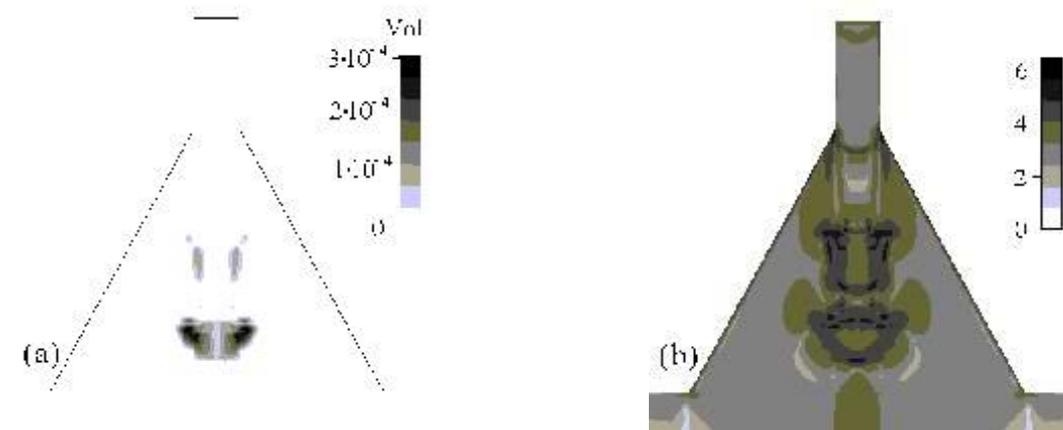
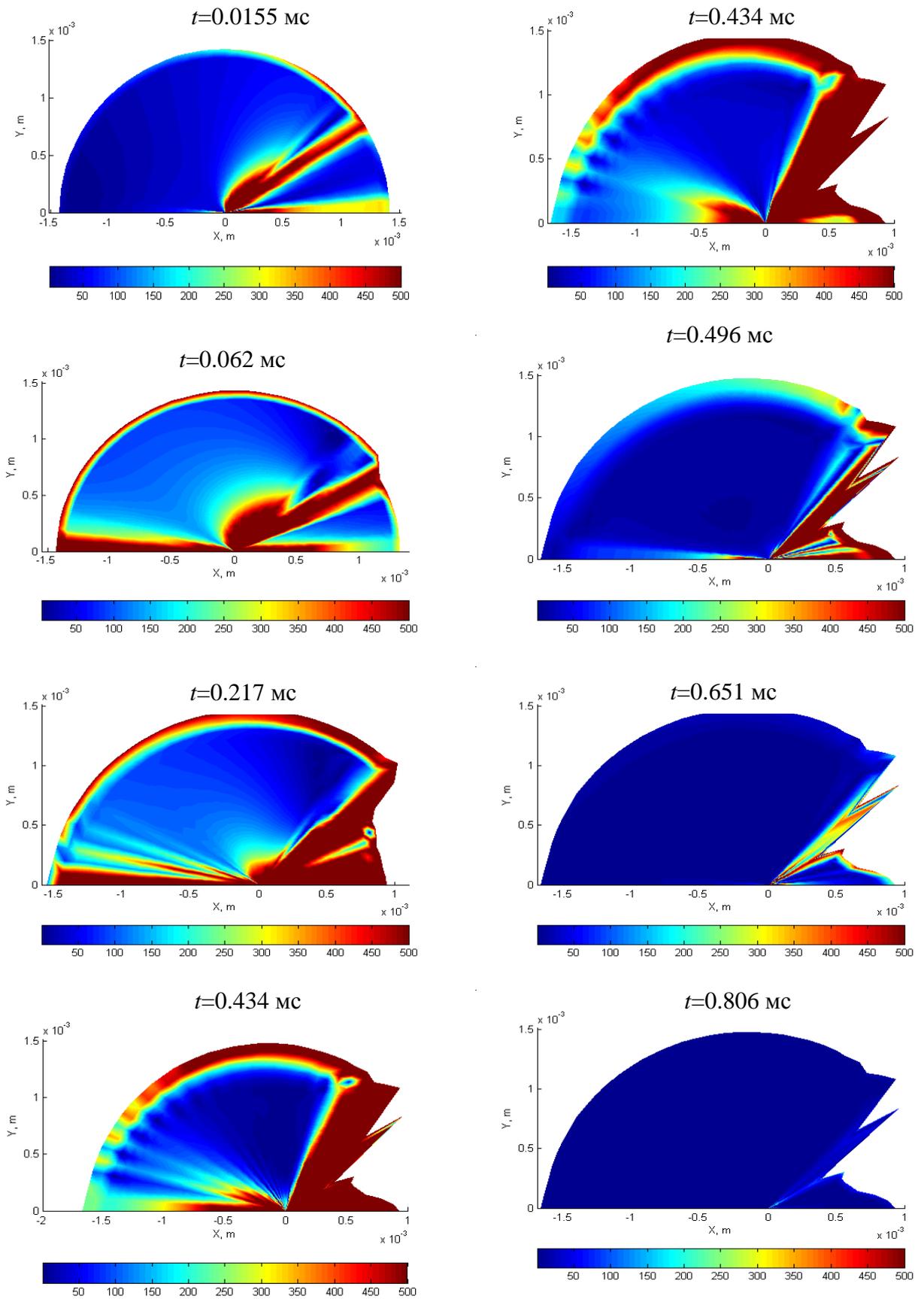


Рисунок 8. Объемная доля паров (a) и десятичный логарифм от скорости деформации (b)

Аналогичный гидродинамический эффект развивается при поглощении энергии лазерного луча в тонком приповерхностном слое падающей капли с его взрывным вскипанием и образованием пересыщенного пара около поверхности, возникновением волн сжатия и разряжения в жидкости. Они продолжают после окончания лазерного воздействия.



а) при воздействии лазера

б) после окончания лазерного воздействия

Рисунок 9. Математическая модель взаимодействия лазера с падающей каплей жидкости

На рисунке. 9 представлена скорость изменения поверхности испарения и возникновение «сдвиговых» волн в жидкости при воздействии лазерного пучка на падающую каплю жидкости радиусом $1,5 \times 10^{-3}$ м, радиус лазерного пучка $0,8 \times 10^{-3}$ м с плотностью мощности излучения 25 кВт/см^2 ; время взаимодействия лазера с каплей $t_0 = 0,01$ мс.

Эффективность физической модификации дрожжевой культуры *Saccharomyces cerevisiae* оценивали после воздействия на нее излучения CO_2 -лазера с параметрами 4-16 Дж/см²; ультразвука частотой 15-50 кГц и экспозицией от 5 с до 300 мин, интенсивностью колебаний $0,5-50 \text{ Вт/см}^2$; инфразвука с частотой от 6 до 16 Гц, уровнем звукового давления 120–200 дБ, экспозицией от 30 с до 30 мин; пропускания жидкости через профилированные сопла диаметром 1 мм, углом 15° , 30° , 60° с перепадом давления от 2 до 10 атм.

После воздействия вышеуказанных физических факторов дрожжевую культуру инкубировали при температуре 25°C в течение 24 часов. Затем проводили холодную фильтрацию проб при температуре 4°C . Определяли содержание метаболита – этанола с использованием метода газожидкостной хроматографии на хроматографе «Кристалл 2000», снабженного пламенно-ионизационным детектором. Результаты и ход анализа контролировали в программе «J. Chrom». Количественные микробиологические высевы проводили на поверхности плотной питательной среды с последующим подсчетом жизнеспособных клеток. Для культивирования дрожжей использовали среду Сабуро. Высевы дублировали в двух чашках Петри. После посева чашки инкубовали при 37°C 2-3 сут. и проводили подсчет числа выросших колоний.

Секрецию нановезикул микробной культурой *E.coli*, подвергнутой воздействию лазерного излучения и пучка электронов, определяли после центрифугирования жидкой культуры клеток *E.coli* в течение 20 мин при скорости 12000 об./мин с последующей их дифференциальной спектрометрией по методике М.Я.Малаховой [1996] в собственной модификации. Регистрировали спектральную характеристику культуральной среды в диапазоне длин волн

238–310 нм. Анализ проводили на спектрофотометре СФ-46, конечный результат выражали в условных единицах площади фигуры, ограниченной кривой графика и осью абсцисс в диапазоне длин волн 238–310 нм.

Секрецию белков теплового шока БТШ70 в культуральную среду дрожжевой культуры *Saccharomyces cerevisiae* и культуры клеток фибробластов мышей определяли путем иммуноферментного анализа с использованием наборов антител лаборатории защитных механизмов клетки института цитологии РАН [патент РФ №2242764].

Возможность получения целевых олигосахаридов из исходных полисахаридов изучали на модели лазерной деполимеризации гепарина с исходной молекулярной массой 200 кДа. Для выявления степени деполимеризации полисахаридов использовали ВЭЖХ на аппарате «Agilent» (США), с колонкой Luna Phenomenex C18 и детектором UV 230 нм.

Общую активность цитокинов определяли путем измерения их влияния на миграционную активность лейкоцитов *in vitro* в реакции торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ) с различными антигенами.

Изменение активности и роста биомассы дрожжевой культуры *Saccharomyces cerevisia* определяли после воздействия лазерного излучения, ультразвука, инфразвука и пропускания жидкости под давлением с биообъектами через профилированные сопла Лавая.

Определяли деполимеризацию полисахаридов в капельной струе под действием лазерного излучения. В качестве источника излучения был выбран CO₂-лазер (излучение с длиной волны $\lambda=10,6$ мкм), поскольку на этой длине волны величина коэффициента поглощения излучения водой и водными растворами, содержащими биообъекты, на 4 порядка выше, чем для излучения рубинового лазера (длина волны 1,06 мкм). Максимальная мощность излучения CO₂-лазера $Q_{\max}=220$ Вт. Лазерный луч диаметром $d_{\text{л}}=1,6$ мм направляли перпендикулярно траектории свободного падения капель водного раствора полисахаридов. Диаметр капель, с точностью до $\pm 12\%$, составлял $d_{\text{к}}=2,6$ мм, их скорость в зоне взаимодействия равна $v_{\text{к}}=0,485$ м/с, а время взаимо-

действия $t_{вз} = 8,7$ мс. Капли собирали в теплоизолированном сборнике. Измеряли дальность горизонтального смещения капли от места взаимодействия, температуру воды в приемном контейнере и массу испаренной жидкости. Проводили видеосъемку процесса взаимодействия капли с лазерным лучом. Изменение относительных масс фракций измеряли с помощью жидкостного хроматографа по общепринятой методике.

Для оценки эффективности модификации микроорганизмов и биополимеров определяли изменения их гидрофобных свойств (изменения коэффициента распределения клеток в двухфазных водополимерных системах.). Примером служит обработка лазером культуры клеток фибробластов мышей и белка – альбумина.

Модификацию фибробластов осуществляли путем воздействия излучения CO_2 лазера с плотностью энергии $13,0$ Дж/см² на капельную струю, содержащую культуру фибробластов.

Для модификации бактериальных ЛПС применяют лазерные установки мощностью излучения в диапазоне 10 Вт– 15 кВт в видимом и инфракрасном свете, широкоапертурный (170×200 мм) ускоритель электронов на 150 – 190 кэВ. Исследование структуры ЛПС при их модификации проводили при помощи ЖХ высокого давления на приборе фирмы «Agilent» с колонкой Luna Phenomenex C18(2), поток через колонку: 1 мл/мин ; детектор: UV 230 нм.

2.2. Методы оценки защитных свойств модифицированных биомишеней, БТШ70 и их индукторов

Защитный эффект продуктов лазерной активации дрожжевой культуры *Saccharomyces cerevisiae* (ПЛАДК), мЛПС, внеклеточных БТШ70 и их индукторов изучали на моделях радиационных, химических поражений и действия биопатогенов у мышей линии СВА и СЗН/HeJ. Радиационные поражения вызывали общим γ -облучением ($5,5$; $6,5$; $10,0$ Гр) на установке ИБУР четырьмя источниками, мощность дозы – $1,197$ Гр/мин, химические – острой (одно-

кратно 250 мг/кг) и хронической (10 и 20 мг/кг в течение 10 и 20 сут) интоксикацией циклофосфаном. Защитный эффект мЛПС и БТШ70 изучали также на моделях токсического отека легких, вызываемого ингаляционной интоксикацией фосгеном в токсодозе 4,0 мг×мин/л, геморрагического отека легких, вызываемого интраназальным заражением патогенным для мышей вирусом гриппа H3N2(3 ЛД₅₀) и эндотоксического шока. Эндотоксиновый шок вызывали введением внутрибрюшинно бактериального ЛПС (1-7 ЛД₅₀) *Serratia marcescens*-продигиозана (ЛД₅₀= 4,0 мг/кг)..

Продукт лазерной активации дрожжевой культуры *Saccharomyces cerevisiae* (ПЛАДК) применяли перорально в течение 28 сут после облучения (интоксикации циклофосфаном), 14 сут после заражения мышей вирусом гриппа H3N2 (для сравнения за 24 ч и 1 ч до заражения вводили ремантадин в дозе 70,0 мг/кг). Модифицированный пучком электронов (150 кГр) ЛПС – мЛПС (0,1 ЛД₅₀) и БТШ70 (20 мкг) вводили внутрибрюшинно за 30 мин до и через 30 мин после облучения, или через 24 ч после интоксикации циклофосфаном с последующим ежедневным введением в течение 4 сут. Животных наблюдали в течение 30 сут после облучения или окончания интоксикации.

Для защиты от эндотоксического шока вводили мЛПС (0,1 ЛД₅₀) за 1 ч до введения ЛПС *Serratia marcescens*. В группе контроля применяли необлученный ЛПС (0,1 ЛД₅₀). БТШ70 (50 мкг на мышь) вводили внутрибрюшинно за 10 мин до инъекции летальных доз ЛПС. БТШ70 был получен из лаборатории защитных механизмов клетки НИИ Цитологии РАН (СПб.).

Критерием защитного эффекта ПЛАДК, мЛПС и БТШ70 служили выживаемость, продолжительность жизни мышей после облучения (интоксикации), динамика изменений массы тела, гематологических показателей и иммунного статуса. Исследования крови проводили на 7, 14, 21 и 28 сут после облучения или интоксикации. Изменения клеточного иммунитета оценивали по данным РТМЛ с КонА, Г-КСФ, ЛПС. В лимфоцитах определяли активность СДГ и ЛДГ, проводили НСТ и ЛКТ-тесты. «Респираторный взрыв» в

нейтрофилах крови определяли путем хемиллюминетрии. Оценивали изменения массы селезенки мышей; морфометрию биоптатов, иммуногистохимические исследования проводили с помощью световой и электронной микроскопии. В клетках и сыворотке крови определяли БТШ70 иммуноферментным способом и методом иммуноблотинга. Функциональное состояние TLR4 мононуклеаров крови оценивали по изменению уровня цитокинов в ответ на стимуляцию ЛПС. Цитокины определяли с использованием антител к ИЛ6, ИЛ10, HMGB1 и ФНО фирмы «R&D systems», США на аппарате Personal Lab, Adaltis, Италия.

Для защиты от летальной гриппозной инфекции и ингаляционного отравления фосгеном вводили мЛПС (0,1 ЛД₅₀) и БТШ70 (50мкг/мышь) через 10 мин после заражения или интоксикации, затем ежедневно в течение 4 суток мышам линии ABC (n=150) вводили внутрибрюшинно мЛПС (0,1 DL₅₀), БТШ70 (50 мкг/мышь), БТШ70-ПЭГ или БТШ70-Fc. Животные были разделены на 5 групп (n=20). Животным 1 группы вводили рекомбинантный БТШ70, 2 группы – БТШ70-ПЭГ, 3 группы – БТШ70-Fc, 4 группы (контроль) – физиологический раствор в том же объеме, 5 группа – интактные животные. Выраженность отека легких определяли по величине легочного коэффициента (ЛК) $ЛК = \text{масса легких} / \text{масса животного} \times 1000$.

В плазме крови мышей определяли уровень цитокинов – ИЛ-6, ИЛ-10, HMGB1 (амфотерина) (иммуноферментный анализ на анализаторе Personal LAB, Adaltis, Италия с использованием специфических компонентов к цитокинам мышей фирмы «R&D Systems», США). ЛДГ в крови определяли на анализаторе SAPPHIRE-400 (Tokyo Boeki Ltd., Япония). Число CD3+; CD3+CD8+; CD3+CD8+PD1+; CD3+CD8+Tim-3+; CD3+CD8+PD1+Tim-3+ лимфоцитов в крови определяли методом проточной цитометрии (Cell Lab Quanta™ SC, “Beckman Coulter”, США) с использованием мышиных антител фирмы Biolegend (США). Гранзим В определяли в лимфоцитах методом иммуноцитохимии с использованием антител фирмы Abcam (США), морфометрической программы и критерия H-Score (Патент РФ № 2662916).

Для повышения устойчивости к кровопотере и защиты от травматического токсикоза крысам линии Вистар вводили внутривенно БТШ70 (100 мкг на крысу), БТШ70-ПЭГ и БТШ70-Fc. Животных разделяли на 5 групп (n=20). Крысам 1-ой группы вводили БТШ70, 2-ой – БТШ70-ПЭГ, 3-ей – БТШ70-Fc, 4-ой – физиологический раствор в том же объеме (контроль), 5 группа – интактные животные. Препараты вводили ежедневно в течение 3 сут. до массивной кровопотери или сразу после прекращения компрессии мягких тканей обеих бедер. Кровопотерю моделировали путем забора крови через катетер в хвостовой артерии – 2 мл/мин до достижения среднего АД = 30 ± 5 мм. рт.ст., которое поддерживали на этом уровне в течение 60 мин. Раствором Рингера восполняли 200% от кровопотери в течение 60 мин., затем определяли выживаемость и продолжительность жизни крыс. Уровень АД измеряли при помощи системы для неинвазивного контроля АД животных - аппарат NIBP200A (фирма «Biorac Systems, Ins.», США).

Травматический токсикоз моделировали у наркотизированных животных (нембуталом в дозе 40мг/кг) 6-часовым сдавливанием мягких тканей бедра крыс в специальных тисках площадью 5 см^2 с желобообразным вырезом для предупреждения перелома бедренной кости. Сила компрессии – 5 кг/см^2 . Выживаемость крыс определяли через 24 ч после кровопотери и через 7 сут. после компрессионной травмы, их ткани забирали для изучения морфологических изменений: мышцы сдавливаемых конечностей, почки, печень, легкое, сердце. Биоптаты окрашивали гематоксилин-эозином. Пробы крови забирали через 24 ч после кровотечения или декомпрессии, в них определяли ИЛ6, ИЛ10 с использованием антител к цитокинам крыс фирмы «R&D systems», калий, креатинин, АлТ, АсТ, КФК определяли на анализаторе SAPPHIRE-400, Япония.

Защитный эффект БТШ70, БТШ7-ПЭГ и БТШ70-Fc изучали на модели декомпрессионной болезни у белых крыс самцов (n=100) массой тела 190–240 г, которые были разделены на 5 групп. БТШ70 вводили внутривенно (50, 100 мкг/животное) через 3–5 мин после изъятия животных из барокаме-

ры. Животным 1-й группы вводили рекомбинантный БТШ70, 2-й – БТШ70-ПЭГ, 3-й – БТШ70-Fc, 4-й – физиологический раствор (контроль), 5-я группа – интактные животные. Животных 1–4-й групп подвергали воздействию повышенного давления воздуха (750 кПа, экспозиция 90 мин) в барокамере. По завершении изопрессии проводили безостановочную декомпрессию со скоростью 200 кПа/мин. В течение 30 мин после изъятия животных из барокамеры оценивали состояние животных. Регистрировали поведенческие реакции и исследовательскую активность животных в пробе «открытое поле» через 1 сутки с использованием аппарата «Actimot2/MoTiL2» фирмы «TSE» (Германия). Работоспособность животных оценивали через 1 сутки эксперимента с использованием прибора «Rota-Rod/RS Harvard» фирмы «PanLab», США).

Влияние БТШ70 на показатели физической работоспособности при экстремальных физических нагрузках определяли по показателю максимального времени бега на тредбане «до отказа», нагрузочные пробы проводили ежедневно или через сутки в течение 19 сут. БТШ70, БТШ70_ПЭГ и БТШ70-Fc (50, 100 мкг/животное) вводили внутрибрюшинно через 5 мин после завершения физической нагрузки. По завершении исследований в крови определяли содержание КФК, ЛДГ, ИЛ6, ИЛ10 (патент США № 9616100)

2.3. Методы оценки эффективности применения лазерного излучения для повышения эффективности вакцинации

Эффективность применения лазерного излучения для повышения защитной активности вакцинации с использованием противогриппозной вакцины Ваксигрип фирмы Aventis изучали при сочетании действия лазера на вентральную поверхность кожи ушной раковины мышей с внутрикожным введением вакцины (50 мкл), рисунок 7. Для сравнения вводили 50 мкг БТШ70 внутрикожно в область введения вакцины перед вакцинацией. Параметры лазера $\lambda = 510$ нм и 578 нм; экспозиция 120–180 с. Диаметр световода – 5 мм Интенсивность излучения на конце световода $P = 0,5–3,0$ Вт/см². Титр

противогриппозных антител определяли через 28 сут после вакцинации, РТМЛ с КонА, ФГА и вакциной определяли через 48 ч, 7, 14, 21, 28 сут после вакцинации. БТШ70 в коже уха мышей определяли после облучения с помощью иммуногистохимических реакций и иммуноблоттинга. Число и активность клеток Лангерганса кожи определяли гистохимически (В.М.Быков, 1997) и путем электронной микроскопии (Европатент EP-2341932, патент США №10062376).

Общее количество клеток, относящихся к воспалительному инфильтрату (нейтрофилов, моноцитов и лимфоцитов) определяли путем стереоморфометрии в пленочных препаратах из кожи ушной раковины мышей, окрашенных гематоксилином. Подсчет общего количества клеток осуществляли в стандартном условном объеме препарата.

Для уточнения механизмов активации клеток кожи лазерным излучением проводили исследования на культуре клеток фибробластов мышей линии СЗН, облученной CO₂-лазером. Клетки FC3-1 (1,5 млн/2мл) подвергали воздействию излучения CO₂-лазера в дозах 3, 6, 10 и 13 Дж/см², после чего высаживали на 72 ч (среда И:199) и затем собирали кондиционированную среду. На кондиционированные среды, а также на среду от необработанных клеток в качестве контроля высевали интактные, необлученные FC3-1 клетки (200 тыс./Т25) на 72 ч. Спустя 72 ч клетки снимали и подсчитывали в камере Горяева.



Рисунок 10. Внутрикожное введение в вентральную поверхность ушной раковины мышей противогриппозной вакцины Ваксигрип в сочетании с модифицированным ЛПС и БТШ70

2.4. Определение электрофильных ксенобиотиков в биосредах, воде и в воздухе

Электрофильные ксенобитики и хлорированные углеводороды в биосредах и воде определяли на газовом хроматографе «Кристалл-2000», детектор электронного захвата. Время удерживания хлорированных углеводородов от 8,66 до 33,8 мин. Идентификацию экотоксикантов осуществляли методом газовой хроматографии и масс-спектрографии на аппарате фирмы «Agilent» [703].

Концентрат экотоксикантов получали трехкратным вымораживанием водопроводной воды с последующей лиофильной сушкой [645, 666].

2.5. Исследование нарушений клеточного метаболизма

Восстановленный глутатион в эритроцитах и лимфоцитах определяли по методу G.L.Ellman, основанном на образовании окрашенного продукта, имеющего максимум поглощения при длине волны 412 нм при взаимодействии ДТНБ с кислоторастворимыми SH-группами. Глутатионпероксидазу в эритроцитах и лимфоцитах человека определяют по методу А.Н. Гавриловой и Н.Ф. Хмары, основанном на окислении восстановленного глутатиона гидроперекисью трет-бутила. Определение глутатионредуктазы в лимфоцитах человека проводили по методу I. Cariberg, В. Mannervik, основанном на каталитическом НАДФН-зависимом восстановлении окисленной формы глутатиона, интенсивность которого оценивали по скорости снижения экстинкции проб при длине волны 340 нм, на которой раствор НАДФ·Н имеет максимум светопоглощения.

Энергетический обмен лимфоцитов моноцитов и нейтрофилов изучали путем определения в них активности окислительно-восстановительных ферментов: СДГ; ЛДГ; Г6ФДГ. Активность дегидрогеназ оценивали по методу Р.П.Нарциссова (1970).

Маркеры эндогенной интоксикации определяли в плазме, на эритроцитах периферической крови и в моче по М.Я. Малаховой [98]. Суть метода сводится к осаждению крупномолекулярных белков плазмы крови 15% ТХУ и регистрации спектральной характеристики водного раствора супернатанта в зоне длин волн от 180 до 310 нм. Конечный результат выражали в условных единицах площади фигуры, ограниченной кривой графика и осью абсцисс в диапазоне длин волн 238 – 300 нм.

2.6. Методы оценки иммунного статуса

Методы оценки иммунного статуса включали оценку показателей клеточного, гуморального иммунитета и неспецифической резистентности.

Показатели клеточного иммунитета определяли с использованием РТМЛ-теста. Этот тест отражает способность лимфоцитов продуцировать лимфокины. Сенсibilизированные к определенным антигенам Т-лимфоциты в их присутствии выделяют лимфокины, в том числе факторы, ингибирующие миграцию лейкоцитов. РТМЛ позволяет определить специфический Т-клеточный иммунный ответ на различные антигены.

Для оценки общей функциональной активности Т-лимфоцитов в РТМЛ применяли неспецифические антигены – КонА и ФГА. Реакцию проводили в специальных капиллярах. В две лунки планшета для иммунологических исследований наливали по 0,2 мл исследуемой крови. В первую порцию вносили 0,05 мл изотонического раствора хлорида натрия (контроль), во вторую – 0,05 мл раствора КонА или другого антигена в концентрации 10 мкг/мл. Капилляры центрифугировали в течение 5 мин при 800 об/мин, инкубировали при 37 °С в течение 24 ч, затем учитывали результаты. Определяли длину миграции основной массы лейкоцитов от границы эритроцитарного осадка. Результаты выражали в виде процента миграции в опыте относительно контроля. В норме он составлял 80–120%; повышение до 130% или снижение до 70% является умеренным; выше 140% и ниже 60%

– значительным. Увеличение показателя миграции свидетельствует о снижении функциональной активности лимфоцитов, способности их продуцировать лимфокины, в частности фактора, угнетающего миграцию лейкоцитов (ФУМ).

Об эффективности лечебных воздействий судили по восстановлению нарушенной чувствительности лимфоцитов к регуляторным воздействиям – изменениям миграционной активности лейкоцитов при их взаимодействии с КонА, Г-КСФ, ЛПС, ИЛ-1 и ИЛ-2. На эффективность средств защиты от токсических веществ и биопатогенов может также указывать уменьшение выраженности аутосенсibilизации лимфоцитов к собственным тканевым антигенам после воздействия инфекционных и токсических агентов. Эффективность средств защиты может проявляться снижением выраженности и частоты положительных РТМЛ проб с собственными антигенами – с печеночным, почечным, легочным антигенами, миелином и т.д.

Неспецифическую резистентность организма оценивали в лизосомально-катионном тесте (ЛКТ) и НСТ-тесте: с нитросиним тетразолом. НСТ-тест основан на восстановлении поглощённого фагоцитом красителя нитросинего тетразолия в нерастворимый диформаза́н под влиянием супероксид-аниона, образованного в НАДФН-оксидазной реакции. Размеры диформаза́новых отложений отражают суммарную активность НАДФН-оксидазы, стимуляцию фагоцита. НСТ-тест интегрально характеризует кислородозависимые системы фагоцита. ЛКТ-тест основан на цитохимическом выявлении неферментных лизосомально-катионных белков. Использовали забуференный спиртовой раствор прочного зелёного с рН 8,1–8,2 и 0,25% водный раствор азура А [131]. При микроскопии мазков крови в 100 гранулоцитах оценивали количество и степень окрашенности в зелёный цвет лизосом, в сиреневый и синий цвета – клеточных ядер и жизнеспособных бактерий. Результаты выражают в условных единицах среднего цитохимического коэффициента (СЦК).

«Окислительный взрыв» и продукцию АФК в нейтрофилах периферической крови, оценивали с помощью проточной цитофлюориметрии, которая позволяет с высокой точностью измерять эффективность реакции окислительного взрыва в индивидуальных клетках. Нейтрофилы выделяли центрифугированием на градиенте Ficoll-Нураque. Исследование (анализ) кислородного взрыва проводили не позже 8 часов после забора крови. Его вызывали добавлением 100 нг/мл РМА фирмы «Pharmacia». Измерения проводили после инкубации проб с 30 мкг/мл гидроэтидина, который вызывал свечение при возбуждении его светом на длине волны 480 нм. Флюоресценцию клеток в проточном цитометре вызывали аргоновым лазером. При внутриклеточном окислении радикал кислорода превращал его в этидиум бромид, обладающий сильной красной флюоресценцией. Показателем активности респираторного взрыва являлась медиана интенсивности флюоресценции (МИФ).

Нарушения функционального состояния TLR4 мононуклеарных клеток крови оценивали путем определения изменений секреции цитокинов в ответ на их стимуляцию ЛПС. Суспензию лейкоцитов человека (1.0×10^6 клеток/мл), помещают в культуральную среду RPMI-1640 и инкубируют в течение 24 ч в при $t 37^\circ\text{C}$ в атмосфере 5% CO_2 в присутствии и отсутствии ЛПС (10 нг/мл), который применяют для стимуляции секреции цитокинов. Определяют уровень цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-10, ФНО) в плазме и супернатанте культуры лейкоцитов человека, стимулированных ЛПС методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием антител фирмы «R&D systems», США

2.7. Определение белков теплового шока (БТШ70)

БТШ70 в клетках и сыворотке крови определяли иммуноферментным методом [пат. РФ №2242764] с помощью набора реактивов Института цитологии РАН, а также методом иммуноблоттинга (Western blotting).

2.8. Электронно-микроскопические исследования

Для выявления наноструктурных модификаций клеток использовали их ультратонкие срезы после фиксации в 1,5%-ном глутаральдегидном фиксирующем растворе. Фиксированные клетки отмывали 0,05 М какодилатным

буферным раствором и обрабатывали четвероокисью осмия. Затем препараты обезвоживали и заключали в эпоксидную смолу. Блоки разрезали с помощью ультратома 2128 LKB (Швеция). Электронно-микроскопические изображения получали при использовании микроскопа JEM-100B (60 кВ).

2.9. Клинические исследования

Наряду с общеклиническим обследованием больных (жалобы, анамнез жизни и профессиональной деятельности, анамнез заболевания, физикальные данные) проводят лабораторно-инструментальные исследования, которые включают: общеклинические анализы крови и мочи по стандартным методикам; биохимические исследования (определение ЩФ, АсТ, АлТ, ЛДГ, КФК, билирубина, альбумина, холестерина, креатинина, мочевины, ГГТП, общего белка, хлора, калия, кальция, магния, натрия, мочевой кислоты, глюкозы; фиброэзофагогастродуоденоскопию (аппарат GIF-Q20 «Olympus») с проведением прицельной биопсии слизистой оболочки желудка. Уровень БТШ70 определяли в биоптатах слизистой периаульцерозной зоны. При местном лечении торпидно текущих язв желудка использовали излучение лазера на парах меди. Периульцерозную зону облучали через инструментальный канал эндоскопа. Плотность потока энергии – $1,5 \text{ Вт/см}^2$, время облучения – 120 сек. Сеансы проводили 2 раза в неделю, 5–8 процедур на курс лечения.

2.10. Методы статистического анализа полученных данных

Результаты исследований обрабатывали методами вариационной статистики с определением средней арифметической (M), средней ошибки средней арифметической (m), среднего квадратического отклонения (δ). Для определения достоверности различий вычислялся доверительный коэффициент Стьюдента (t), точный критерий Фишера, критерий Манна-Уитни и величина вероятности (p). Статистическая обработка проводилась с использованием программы "Statistica 5.0", электронных таблиц "Microsoft Excel".

ГЛАВА 3. РАЗРАБОТКА И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СРЕДСТВ ЗАЩИТЫ ОТ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ, ПОЛУЧЕННЫХ НА ОСНОВЕ ЛАЗЕРНЫХ, РАДИАЦИОННЫХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ

Установлено, что для получения средств перекрестной защиты от радиационных, токсических поражений и биопатогенов активирующие физические воздействия должны быть высокоинтенсивными, чтобы вызвать универсальную защитную реакцию клеточного стресса, но кратковременными (импульсными), чтобы не вызывать летальных повреждений клеток. Этим требованиям соответствует импульсно-периодическое излучение лазера с пиковой мощностью 1-10 Квт наносекундный высоковольтный электрический разряд, импульсный ультразвук, инфразвук, воздействие на жидкость при пропускании ее под давлением через профилированные сопла Лавалья (установка кавитационного действия).

Доказано, что эффективным путем физической модификации биомешиней (бактериальных ЛПС, растительных полисахаридов, вируса гриппа, парамиксовируса Сендай) является их обработка пучком электронов (широкоапертурный ускоритель, 340 см^2 , 175 кэВ).

Для лечения БТШ-зависимых патологических состояний получены комбинационные БТШ70 и их производные пролонгированного действия – БТШ70-ПЭГ и БТШ70-Fc.

3.1. Оценка эффективности модификации биообъектов

Изменение содержание этанола в фильтрате культуральной среды дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* после воздействия ультразвука, лазерного излучения, инфразвука, пропускания ее под давлением через сопла Лавалья представлено в таблицах 1-4. Выявлена дозозависимая активация дрожжевой культуры при воздействии на нее ультразвука с плотностью мощности 30 Вт/см^2 при экспозиции 1–3 мин (табл.1). Метаболическая активация микро-

организмов инфразвуком уменьшается при увеличении интенсивности сигнала. Достоверные изменения выявлены только при интенсивности сигнала в 90 дБ (табл. 2). При воздействии лазерного излучения установлен двухфазный характер изменений содержания этанола - трехкратное снижение при мощности лазерного излучения 7,8 Дж/см², значительное увеличение при повышении мощности лазерного воздействия до 10 Дж/см² (табл. 3).

Таблица 1. Содержание этанола в дрожжевой культуре *Saccharomyces cerevisiae* после воздействия на нее ультразвука с плотностью мощностью 30 Вт/см²

Время воздействия	Содержание этанола по отношению к контролю, %
1 мин	93,7±15,4
2 мин	131,3±3,3*
3 мин	165,4±26,5*
* - различия достоверны в сравнении с группой	

Таблица 2. Содержание этанола в фильтрате культуры дрожжей после воздействия инфразвука (частота 16 Гц, экспозиция 10 мин)

Уровень воздействия	Содержание этанола по отношению к контролю, %
Уровень звукового давления 90 дБ Период следования сигнала 200 мс	125,1±4,5*
Уровень звукового давления 130 дБ Период следования сигнала 400 мс	117,3±12,3
Уровень звукового давления 150 дБ Период следования сигнала 600 мс	109,8±10,2
* - различия достоверны в сравнении с группой контроля (p<0,05)	

Таблица 3. Содержание этанола в дрожжевой культуре *Saccharomyces cerevisiae* после воздействия на нее излучения СО₂- лазера

Плотность энергии излучения лазера на капле, Дж/см ²	Содержание этанола по отношению к контролю, %
6,3	93,27±2,79
7,8	26,15±8,29*
10,0	141,71±5,82*
* - различия достоверны в сравнении с группой контроля (p<0,05)	

При пропускании дрожжевой культуры под давлением через профилированные сопла Лавалья выявлено выраженное повышение концентрация этанола при давлении 0,4 и 0,7-0,8 МПа при угле раскрытия сопла 60° и сниже-

ние при давлении 0,5- 0,6 МПа. При работе с соплом 15° не выявлено достоверных отличий от контроля (таблица 4).

Таблица 4. Содержание этанола в дрожжевой культуре *Saccharomyces cerevisiae* после пропускания ее под давлением через сопла Лавалья

Параметры профиля сопла	Уровень звукового давления, МПа.	Содержание этанола по отношению к контролю, %
Угол раскрытия 60°	0,3	102,6±8,6
	0,4	175,3±5,4*
	0,5	89,9±4,2
	0,6	88,3±3,3
	0,7	129,4±4,1*
	0,8	133,4±9,4*
	0,95	84,8±5,1
	1,0	95,5±9,1
	1,1	113,8±11,7
Угол раскрытия 15°	0,45	102,7±12,2
	0,55	122,6±15,2
	0,7	103,3±0,9
* различия достоверны в сравнении с группой контроля (p<0,05)		

Влияние различных физических факторов на рост колоний дрожжей на поверхности твердой культуры Сабуро представлено в таблице. 5. Наибольший рост колоний после воздействия ультразвука отмечен при экспозиции 3 мин (в 5 раз).

Пропускание жидкости через профилированное сопло под давлением 0,7 МПа приводило к увеличению роста колоний на 613 %, под давлением 0,8 МПа – до 1000 %. При увеличении давления до 1,0 – 1,1 МПа рост колоний увеличивался в 2–3 раза. При воздействии лазерного излучения на капельную струю, содержащую культуру клеток микроорганизмов, установлено дозозависимое повышение колониеобразующей активности дрожжей.

Клетки дрожжей, облученные лазером в дозе превышающей 10 Дж/см², дозозависимо образовывали через 18-24 ч после облучения и инкубации при 25 °С нетипичные рыхлые микроколонии из 50-100 клеток с разветвленной формой («пауки»), что отражает число не летально поврежденных клеток.

Аналогичные данные получены при воздействии ультразвука и при прохождении клеток под давлением через профилированные сопла Лавалья (табл. 5).

Таблица 5. Изменение числа колоний дрожжей после воздействия на дрожжевую культуру физических факторов высокой интенсивности

Воздействующий фактор	Время, интенсивность воздействия	Число колоний, % от контроля	Количество микроколоний
Ультразвук, плотность потока энергии 30 Вт/см ²	1 мин	53,2±1,7*	нет
	2 мин	97,1±3,8	нет
	3 мин	497,4±21,3*	4,1±0,5
Пропускание дрожжевой культуры под давлением через сопло, угол раскрытия 60°	0,4 Мпа	109,4±5,2	22,1±3,5
	0,6 Мпа	70,8±2,4*	90,2±8,2
	0,7 Мпа	613,0±13,0*	41,6±3,4
	0,8 Мпа	1490,0±245,7*	35,5±3,8
	1,0 Мпа	228,2±24,2*	78,4±5,2
	1,1 Мпа	337,0±87,3*	50,2±8,1
Пропускание дрожжевой культуры под давлением через сопло, угол раскрытия 15°	0,5 Мпа	83,5±2,5	25,1±2,8
	0,7 Мпа	91,5±2,5	22,6±1,9
	0,8 Мпа	129,2±12,0	12,1±3,0
Плотность излучения СО ₂ -лазера на капле	6,3 Дж/см ²	132,1±16,8	19,3±2,4
	7,8 Дж/см ²	197,7±30,7*	26,4±3,2
	10,0 Дж/см ²	295,5±79,4*	30,5±2,7

* - различия достоверны в сравнении с группой контроля (p<0,05)

Оценка эффективности физической модификации и активации дрожжевых культур показала, что рост дрожжевых культур повышается под влиянием ультразвука в 5 раз, пропускания их под давлением через профилированные сопла в 6–15 раз. Выявлен дозозависимый характер стимуляции роста дрожжевой культуры под влиянием лазерного излучения.

Воздействие излучения СО₂-лазера на капельную струю с полисахаридами водного экстракта исландского мха и морской травы *Zettraria* вызывало замещение высокомолекулярных (80–400 кД) на низкомолекулярные (менее 10 кД) фракции. При интенсивности излучения на капле 0,9 Вт/см² содержание низкомолекулярных фракций полисахаридов возрастало на 40% (табл. 6).

Полученные данные позволяют предположить молекулярный механизм повышения уровня их низкомолекулярных фракций. Неравновесный пере-

грев поверхностного слоя капельной струи при воздействии лазерного излучения сопровождается аномально высоким локальным подъемом давления, порождающим волны сжатия и разряжения в жидкости, которые являются причиной деполимеризации молекул при достижении мощности лазерного луча порогового уровня. Прекращение деполимеризации при высокой мощности излучения связывается с началом взрывного кипения поверхностного слоя, уменьшающего его неравновесный перегрев.

Таблица 6. Изменение соотношения высоко- и низкомолекулярных фракций полисахаридов исландского мха под влиянием лазерного облучения

Плотность мощности излучения лазера на капле, Дж/см ²	Соотношение фракций полисахаридов, %	
	низкомолекулярные	высокомолекулярные
0	24,94	75,05
2	24,95	75,04
6	30,92*	68,06*
9	34,74*	64,49*

* - различия достоверны в сравнении с группой контроля (p<0,05)

Лазерное облучение капельной струи вызывает деполимеризацию содержащегося в ней гепарина, эффект является дозозависимым (табл. 7).

Таблица 7. Изменение соотношения высоко- и низкомолекулярных фракций гепарина под влиянием лазерного облучения

Плотность мощности излучения лазера на капле, Дж/см ²	Соотношение фракций полисахаридов, %	
	низкомолекулярные	Высокомолекулярные
0	8,9	91,1
2	33,1	67,9
6	54,8*	45,2*
9	76,5*	33,5*
13	90,2*	19,8*

* - различия достоверны в сравнении с группой контроля (p<0,05)

Полученные результаты свидетельствуют о том, что лазерное излучение вызывает деполимеризацию полисахаридов с образованием низкомолекулярных фракций олигосахаридов, которые имеют высокую биологическую активность (таблицы 6, 7).

Аналогичные данные получены для ультразвука. Низкомолекулярных фракций полисахаридов исландского мха и гепарина при пропускании их растворов под давлением через сопла Лаваля получить не удалось.

Результаты исследований свидетельствуют, что излучение CO₂-лазера является наиболее перспективным для модификации и активации микроорганизмов и биополимеров.

Проведены исследования по получению нетоксичных производных бактериального ЛПС *Serratia marcescens* (продигиозана) путем воздействия на него пучка электронов с использованием широкоапертурного ускорителя электронов с размером поля облучения 170×200 мм в импульсном режиме.

Известно, что хроматографическое «время удержания» находится в обратной пропорции с размером исследуемых биомолекул. Установлено, что воздействие пучка электронов вызывает деградацию эндотоксина, приводящую к повышению содержания низкомолекулярных фракций (время удерживания свыше 10 мин) с 3,63 % в необработанном ЛПС до 21,73–68,69–49,43–43,53–15,35–50,73 % при воздействии на исходный биоматериал в дозах 50–100–150–200–300–400 кГр соответственно.

Выявлен двухфазный характер образования низкомолекулярных фракций из ЛПС с максимумами в диапазоне доз 100–150 и 400 кГр (табл. 8).

Установлено, что пучок электронов (50–150 кГр) вызывает деградацию полисахаридов и ЛПС и дозозависимо повышает содержание низкомолекулярных фракций (в 18–25 раз).

Хроматографические исследования с использованием белков-свидетелей с известной молекулярной массой показали, что обработка ЛПС *Serratia marcescens* (продигиозана) пучком электронов приводила к образованию его низкомолекулярных фракций массой 1,0–1,5 кДа и 3,0–5,0 кДа.

Наиболее вероятным продуктом деполимеризации ЛПС, при воздействии лазерного излучения или пучка электронов, являются липоолигосахариды (ЛОС).

Таблица 8. Изменения структуры бактериального липополисахарида *Serratia marcescens* при воздействии на него пучка электронов по данным высокоэффективной жидкостной хроматографии высокого давления

Экспозиционная доза, кГр	Диапазон времени удерживания, мин	Площадь под кривой, % *
0	4,25-5,94	76,861
	7,23-9,14	19,507
	11,93	3,632
50	4,28-5,82	17,389
	6,13-9,93	60,885
	10,15-12,83	21,728
100	4,38-5,86	6,714
	6,07-9,80	24,588
	10,19-12,51	68,687
150	4,07-5,80	9,247
	6,0-9,70	41,324
	10,13-12,44	49,431
200	4,19-5,68	4,947
	6,04-9,85	51,521
	10,17-11,99	43,532
300	4,26-5,60	29,032
	6,20-9,74	55,62
	10,28-12,11	15,35
400	4,29-5,91	10,812
	6,19-9,84	38,457
	10,05-12,48	50,73

*Площадь под кривой характеризует количество данной фракции вещества в пробе

Воздействие CO₂-лазера вызывает гидрофобную модификацию молекулярной структуры клеточных мембран и белковых структур. Это проявляется изменением распределения клеток и молекул белков в двухфазных водно-полимерных системах. Это подтверждают повышение коэффициента распределения (КР) клеток с 0,09±0,03 до 0,15±0,02, P<0,05, при воздействии CO₂-лазера на капельную струю, содержащую культуру клеток фибробластов, и повышение КР с 0,15±0,02 до 0,22±0,01, P<0,05 при воздействии CO₂ лазера на 5% раствор альбумина.

Установлено, что облучение CO₂-лазером (0,5–1,0 кВт/см²) дрожжевой культуры *Saccharomyces cerevisiae* вызывает секрецию БТШ70 в культураль-

ную среду. После лазерной активации дрожжевой культуры уровень БТШ70 повышался в ней более чем в 5 раз. Уровень БТШ70 в культуральной среде после воздействия ультразвука (30 Вт/см^2 , экспозиция 1–3 мин), пропускания ее под давлением через профилированные сопла (0,3–1,1 МПа, угол раскрытия $15\text{--}60^\circ$), инфразвука (90–150 дБ, 16 Гц, экспозиция 10 мин, длительность импульса 200–600 мс) повышался в 2,1–11,6 раз.

«Время жизни» в сыворотке крови у пегилированных форм БТШ70 и БТШ70-Fc было в 10 - 50 раз больше, чем у исходного БТШ70 (рисунок 11).

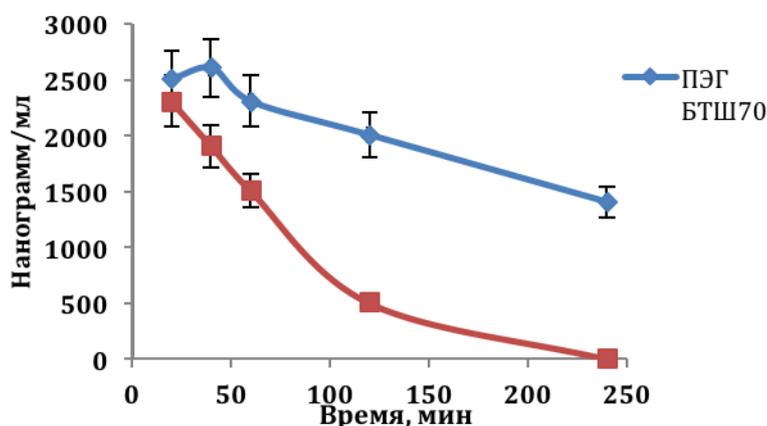


Рисунок 11. Изменение концентрации в сыворотке крови крыс пегилированного и немодифицированного БТШ70 после их введения внутривенно в дозе 100 мкг.

3.2. Оценка защитных свойств модифицированных микробных ЛПС при септическом шоке

Для защиты от эндотоксического шока, вызываемого эндотоксином *Serratia marcescens* (1-7 ЛД₅₀), предварительно за 1 ч, 14 сут и 28 сут вводили модифицированный пучком электронов (20–150 кГр) и лазерным излучением (6 и 9 Дж/см²) бактериальный ЛПС (продигиозан) в дозе 0,1 ЛД₅₀. Животным контрольной группы вводили немодифицированный ЛПС в дозе 0,1 ЛД₅₀. Результаты исследований представлены в табл. 10-12.

Анализ данных, приведенных в табл. 10-12 свидетельствует о том, что радиомодифицированный ЛПС защищает животных при экспериментальном эндотоксическом шоке, вызванном введением летальных доз бактериального эндотоксина.

Таблица 9. Эффективность модифицированного пучком электронов и лазерным излучением бактериального ЛПС (продигиозана) при его внутрибрюшинном введении в дозе 0,1 ЛД₅₀ за 1 ч до экспериментального эндотоксического шока у 20 мышей

Группы животных, доза облучения Продигиозана	Доза продигиозана, ЛД ₅₀	Кол-во погибших животных	Выживаемость, %
Контроль (физраствор) n=10	1	5	50
Контроль (физраствор) n=10	2	10	0
НМ – ЛПС	1	10	50
	2	20	0
МПЭ - ЛПС, 20 кГр	1	8	60
	2	19	5
МПЭ - ЛПС, 25 кГр	1	8	60
	2	19	5
МПЭ - ЛПС, 30 кГр	1	7	65
	2	18	10
МПЭ - ЛПС, 40 кГр	1	2	90
	2	19	5
МПЭ - ЛПС, 50 кГр	1	0	100
	2	12	40
	5	20	0
МПЭ - ЛПС, 100 кГр	1	7	65
	2	12	40
	5	15	25
	7	15	25
МПЭ - ЛПС, 150 кГр	1	0	100
	2	8	60
	5	12	40
	7	14	30
МЛ - ЛПС, 6 Дж/см ²	1	8	60
	2	19	5
	5	20	0
МЛ - ЛПС, 9 Дж/см ²	1	5	75
	2	14	30
	5	17	15
	7	20	0
НМ - ЛПС – немодифицированный продигиозан МПЭ - ЛПС – модифицированный пучком электронов продигиозан МЛ - ЛПС – модифицированный излучением лазера продигиозан			

Таблица 10. Эффективность модифицированного пучком электронов и лазерным излучением бактериального ЛПС (продигиозана) при его внутрибрюшинном введении в дозе 0,1 ЛД₅₀ за 14 сут до экспериментального эндотоксического шока у 20 мышей

Группы животных, доза облучения Продигиозана	Доза продигиозана, ЛД ₅₀	Кол-во погибших животных	Выживаемость, %
Контроль (физраствор) n=10	1	5	50
Контроль (физраствор) n=10	2	9	10
НМ – ЛПС	1	0	100
	2	6	70
	5	12	30
	7	17	15
МПЭ - ЛПС, 20 кГр	1	0	100
	2	5	75
	5	13	35
	7	19	5
МПЭ - ЛПС, 25 кГр	1	0	100
	2	5	75
	5	12	30
	7	17	15
МПЭ - ЛПС, 30 кГр	1	0	100
	2	6	70
	5	15	25
	7	18	10
МПЭ - ЛПС, 40 кГр	1	0	100
	2	2	90
	5	4	80
	7	19	5
МПЭ - ЛПС, 50 кГр	2	0	100
	5	5	75
	7	15	25
МПЭ - ЛПС, 100 кГр	2	0	100
	5	4	80
	7	15	25
МПЭ - ЛПС, 150 кГр	2	0	100
	5	5	75
	7	10	50
МЛ - ЛПС, 6 Дж/см ²	2	4	80
	5	13	35
	7	18	10
МЛ - ЛПС, 9 Дж/см ²	2	6	70
	5	11	45
	7	18	10
НМ - ЛПС – немодифицированный продигиозан МПЭ - ЛПС – модифицированный пучком электронов продигиозан МЛ - ЛПС – модифицированный излучением лазера продигиозан			

Таблица 11. Эффективность модифицированного пучком электронов и лазерным излучением бактериального ЛПС (продигиозана) при его внутрибрюшинном введении в дозе 0,1 ЛД₅₀ за 28 сут до экспериментального эндотоксического шока у 20 мышей

Группы животных, доза облучения Продигиозана	Доза продигиозана, ЛД ₅₀	Кол-во погибших животных	Выживаемость, %
Контроль (физраствор) n=10	1	5	50
Контроль (физраствор) n=10	2	10	0
НМ – ЛПС	2	8	60
	5	8	60
	7	16	20
МПЭ - ЛПС, 20 кГр	2	4	80
	5	16	20
	7	19	5
МПЭ - ЛПС, 25 кГр	2	4	80
	5	15	25
	7	19	5
МПЭ - ЛПС, 30 кГр	2	3	75
	5	16	20
	7	20	0
МПЭ - ЛПС, 40 кГр	2	8	60
	5	4	80
	7	15	25
МПЭ - ЛПС, 50 кГр	2	10	50
	5	10	50
	7	15	25
МПЭ - ЛПС, 100 кГр	2	4	80
	5	5	75
	7	18	10
МПЭ - ЛПС, 150 кГр	2	0	100
	5	5	75
	7	14	30
МЛ - ЛПС, 6 Дж/см ²	2	4	80
	5	13	35
	7	18	10
МЛ - ЛПС, 9 Дж/см ²	2	6	70
	5	11	45
	7	18	10
НМ - ЛПС – немодифицированный продигиозан МПЭ - ЛПС – модифицированный пучком электронов продигиозан МЛ - ЛПС – модифицированный излучением лазера продигиозан * - продигиозан вводили внутрибрюшинно в дозе 0,1 ЛД ₅₀			

Защитный эффект отмечается при введении модифицированного ЛПС непосредственно (за 1 ч) перед возникновением эндотоксического шока, а также за 14 и 28 сут до его развития. Вероятно, ранняя защитная реакция опосредуется рецепторами врожденного иммунитета (TLR), а для формиро-

вания адаптивного иммунного ответа – приобретенного клеточного и гуморального антитоксического иммунитета необходимо время не менее 14 сут. Этот адаптивный ответ сохраняется в течение не менее 28 сут.

Выявлена зависимость эффективности защиты при летальном эндотоксическом шоке от степени структурной модификации ЛПС пучком электронов или лазерным излучением, которая наиболее отчетливо проявляется при их использовании за 1 ч до развития экспериментального эндотоксического шока. Наиболее выраженный защитный эффект отмечался у ЛПС, модифицированного пучком электронов в дозе 100–150 кГр. Защитный эффект продуктов лазерной модификации ЛПС был менее выражен, чем при его модификации пучком электронов. Защитные свойства немодифицированного ЛПС проявлялись только при его введении за 14 и 28 сут до развития экспериментального эндотоксического шока.

Для уточнения молекулярных механизмов защитного действия мЛПС изучали его влияние на образование АФК в лейкоцитах при воздействии на них бактериальных эндотоксинов- «кислородный взрыв». Активация кислородного взрыва в нейтрофилах и токсичность ЛПС снижались пропорционально увеличению степени структурной радиомодификации продигиозана. По сравнению с необлученным препаратом мЛПС (150 кГр) продигиозана вызывал наименьшую активацию нейтрофилов (рис. 12). Бактериальный ЛПС вводили после инкубации клеток с мЛПС, который незначительно активировал «кислородный взрыв». Клетки инкубировали 4 мин с мЛПС, затем добавляли немодифицированный ЛПС и инкубировали еще 20 мин перед добавлением fMLP (1×10^{-6} М). Установлено, что прединкубация клеток с мЛПС существенно снижала вызываемое эндотоксином образование АФК (рис 13,14). Предотвращение развития связанных с избыточным образованием АФК патологических состояний может быть одним из механизмов защитного действия мЛПС.

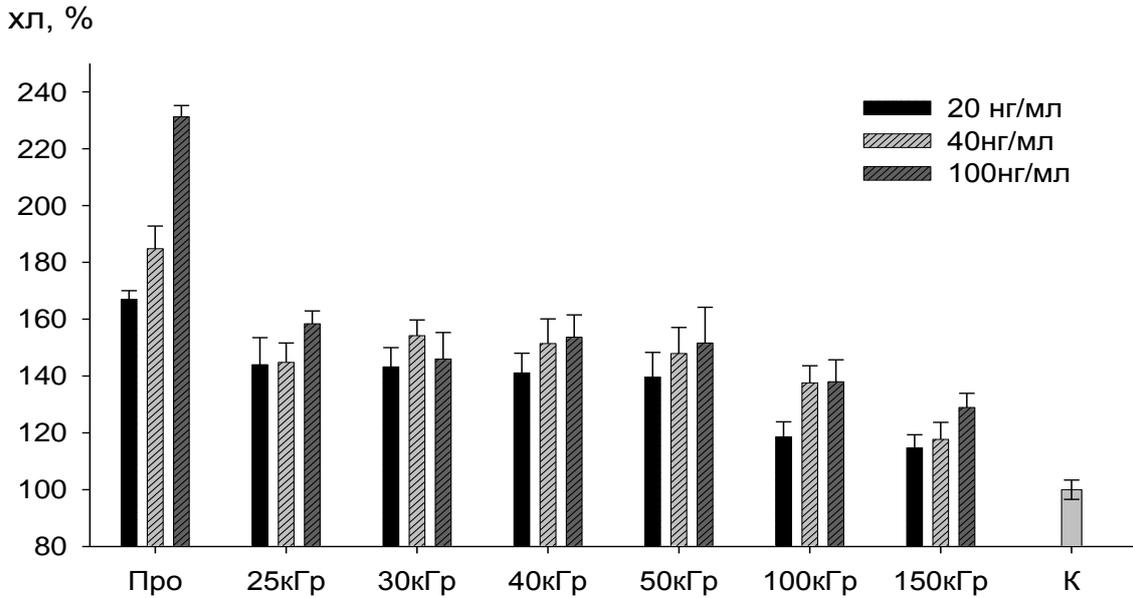


Рисунок 12. Влияние продигозиана (20, 40 и 100 нг/мл) на образование АФК нейтрофилами. Про – необлученный продигозиан. К – контроль.

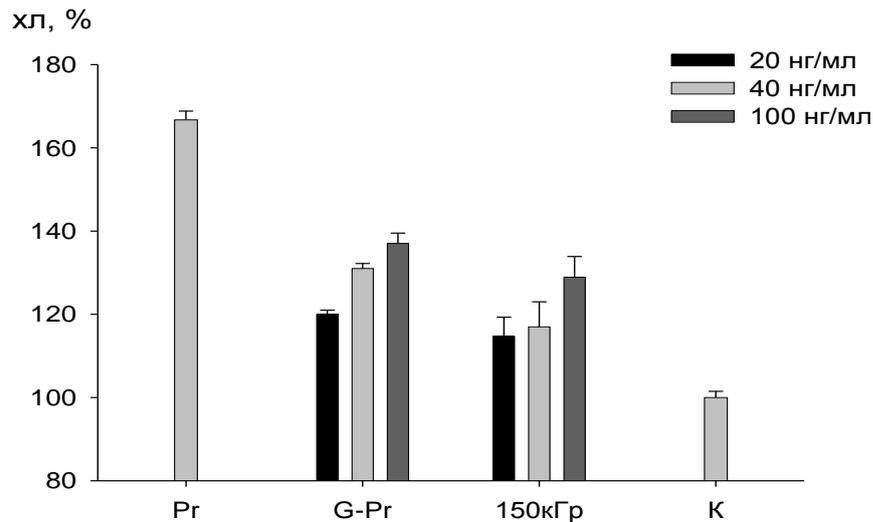


Рисунок 13. Влияние модифицированного ЛПС на активацию «кислородного взрыва» в нейтрофилах немодифицированным ЛПС. К-контроль Pr – ЛПС; G-Pr – последовательная инкубация нейтрофилов с модифицированным (20, 40 и 100 нг/мл) и немодифицированным ЛПС (20 нг/мл). 150 кГр – действие разных концентраций модифицированного ЛПС на хемилюминесценцию (ХЛ) нейтрофилов.

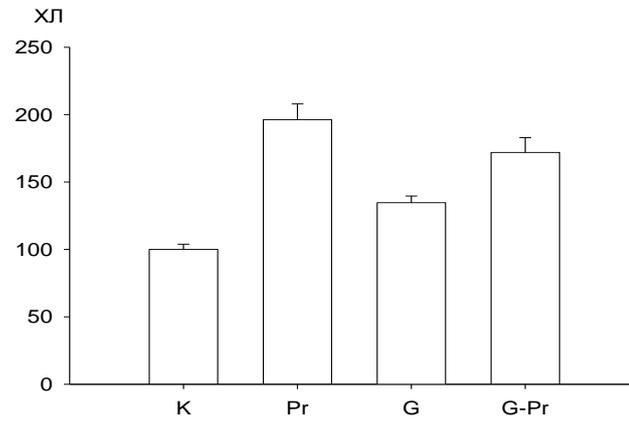


Рисунок 14. Влияние модифицированного ЛПС на активацию «кислородного взрыва» в моноцитах продигиозаном. К – контроль; Pr – продигиозан, G – модифицированный ЛПС (100 нг/мл), G-Pr – последовательная инкубация моноцитов с модифицированным ЛПС

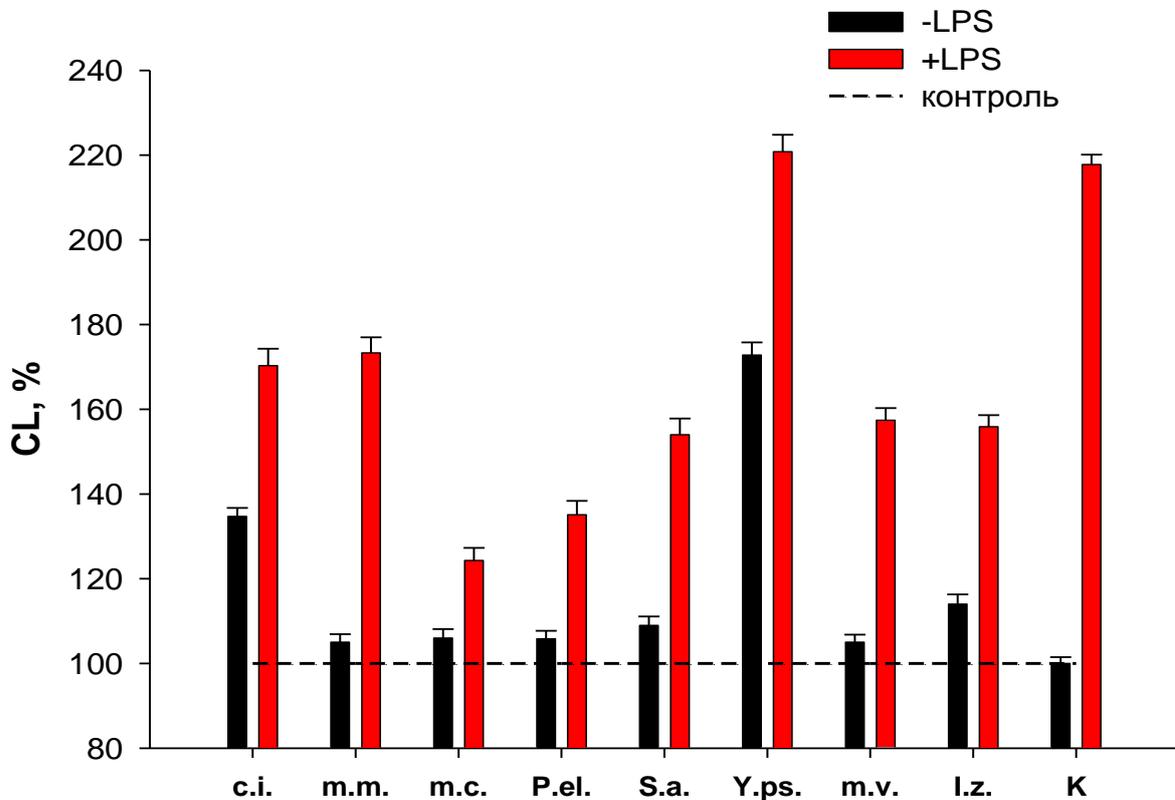


Рисунок 15. Влияние ЛПС морских бактерий (ЛПС_М) на активацию «кислородного взрыва» под влиянием ЛПС_{E.coli}; К – контроль; «- LPS» – инкубация нейтрофилов с ЛПС_М в отсутствии ЛПС_{E.coli}; «+ LPS» – последовательная инкубация клеток с ЛПС_М и ЛПС_{E.coli}; CL – хемилюминесценция в % к контролю; m.c. – *Marinomonas communis*; M.m. – *Marinomonas mediterranea*, M.v. – *Marinomonas vaga*; C.i. – *Chryseobacterium indoltheticum*, P.el. – *Pseudoalteromonas elyakovii*; S.a. – *Shewanella algae*; Y.ps. – *Y.pseudotuberculosis*, I.z. – *Idiomarina zobelii*

Потенциальными антагонистами бактериальных эндотоксинов могут быть низкотоксичные ЛПС из морских бактерий (ЛПС_М). Проведены исследования по изучению влияния ЛПС_М (предоставлены ТИБОХ,

г.Владивосток) на дыхательный взрыв в нейтрофилах, вызываемый эндотоксином *E.coli*. Предварительная инкубация лейкоцитов человека с ЛПСм (200 нг/мл, экспозиция 5 мин) значительно снижала индуцированное ЛПС_{*E.coli*} (200 нг/мл, экспозиция 20 мин) образование АФК. Максимальный защитный эффект выявлен у ЛПС морской бактерий *Marinomonas Communis* (рис. 15).

Эти результаты указывают на возможность использования нетоксичных ЛПС морской бактерии *Marinomonas Communis* для защиты от избыточного образования АФК при воздействии бактериальных токсинов.

Полученные данные свидетельствуют о защитном эффекте БТШ70 при эндотоксическом шоке вызываемым летальными дозами микробных ЛПС (5 LD₅₀). Он был в 1,5 раза выше (выживаемость - 45%), чем у мЛПС, при их сочетанном применении выявлено взаимное усиление протективного эффекта (выживаемость-70%), табл.12.

Для уточнения механизмов защитного действия модифицированного ЛПС были проведены исследования на мышах линии СЗН/HeJ.. Высокие показатели выживаемости мышей (85%) линии СЗН/HeJ (без TLR4) после введения летальных доз микробных ЛПС свидетельствует об участии TLR4 в развитии эндотоксического шока и в механизмах реализации защитного эффекта мЛПС (табл.12)

Таблица 12. Защитный эффект мЛПС и БТШ70 при эндотоксическом шоке у мышей

Показатель	Группы животных			
	мЛПС	БТШ70	БТШ70+мЛПС	СЗН/HeJ мыши (без TLR4)
Выживаемость, %	30	45*	70*	85*

Примечание: * - $P \leq 0,01$ по сравнению с группой «мЛПС»

Эти данные послужили основанием для изучения защитных свойств, модифицированного ЛПС и экзогенного БТШ70 при экспериментальном токсическом отеке легких у мышей, вызываемым ингаляционным поражением фосгеном в дозе 2 ЛД₅₀ и высокопатогенной гриппозной инфекции у мышей.

3.3. Защита от респираторного дистресс-синдрома при высокопатогенном гриппе и ингаляционном отравлении фосгеном у мышей

Установлено, что мЛПСи БТШ70 препятствовали развитию респираторного дистресс-синдрома при высокопатогенном гриппе (H3N2) и ингаляционном отравлении фосгеном у мышей. мЛПС повышал выживаемость мышей при гриппе и токсическом отеке легких до 30 и 50%, соответственно ($P < 0,05$). При ингаляционном поражении фосгеном защитный эффект БТШ70 был более выражен, чем у мЛПС (соответственно 55 и 65%), эффективность применения БТШ70-ПЭГ и БТШ70-Fc была 80% и 90 %, соответственно.

После интоксикации фосгеном воспалительный цитокин HMGB1 (амфотерин) повышался в крови в 33,3 ; ИЛ-6 – в 40,3; ИЛ-10 – в 4,2 раза. Коэффициент ИЛ-6/ИЛ-10 составил 84,1; ЛК повысился в 3,5 раза. мЛПС и БТШ70 препятствовали развитию токсического отека легких, снижали ЛК в 1,45-2,3 раза ($P < 0,05$), уменьшали коэффициент ИЛ-6/ИЛ-10 в 44,3 – 66,2 раза ($P < 0,01$). Они снижали концентрацию HMGB1 в плазме крови в 2,1-2,9 раза ($P < 0,01$). Защитный эффект был наиболее выражен при применении БТШ70-Fc (табл. 13, 14).

Снижение концентрации HMGB1 в плазме крови ниже 60 нг/мл через 3 суток после интоксикации свидетельствовало с вероятностью не менее 90% о благоприятном прогнозе течения респираторного дистресс-синдрома (токсического отека легких) при ингаляционном поражении фосгеном.

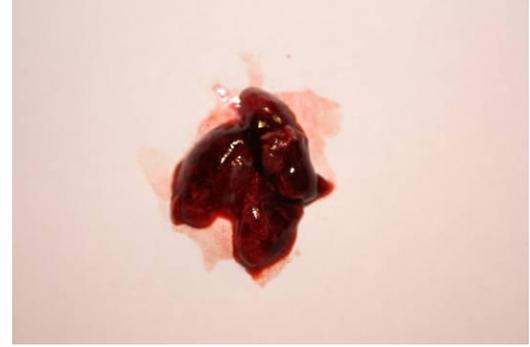
Таблица 13. Защитный эффект мЛПС, БТШ70 и его производных при ингаляционном поражении фосгеном через 3 сут после начала эксперимента, $M \pm m$.

Параметры	Группы животных					
	мЛПС	БТШ70	БТШ70-ПЭГ	БШ70-Fc	Контроль	Интактные
Выживаемость %	50*	65*	80*	90*	10	100
ИЛ6 / ИЛ10	1,79±0,04	1,90±0,07*	1,88±0,06*	1,27±0,03*	84,1±1,9	8,8±0,09
HMGB1 нг/мл	104,8±9,2	109,5±11,4	89,6±9,6*	75,8±7,4*	216,3±19,8	6,5±0,8
ЛК	15,5±2,6*	13,2±2,4*	12,4±1,4*	9,8±0,7*	22,4±1,5	7,8±0,6
ЛДГ, ед/л	2007±410*	2251±425*	1985±430*	1230±545*	3521 ±495	183,2±10,5

Примечание: * - $P < 0,01$ в сравнении с контролем

Защитный эффект БТШ70 и его производных связан с блокадой «тормозных» рецепторов Т-лимфоцитов, нейтрализацией воспалительного цитокина замедленного действия HMGB1 и восстановлением соотношения про- и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-6/ИЛ-10) (табл. 13)

Таблица 14. Защитный эффект мЛПС и БТШ70 при экспериментальном токсическом отеке легких у мышей

Интактные животные, n=20	Контроль (без лечения)
	
Результаты применения средств защиты от поражения	
мЛПС 0,1 ЛД ₅₀ , в/брюшинно ежедневно, 5сут	БТШ70, 50 мкг, в/брюшинно ежедневно, 5 сут
	

Выявлено достоверное повышение числа CD8⁺ Т-лимфоцитов с «тормозными» PD-1 и Tim-3 рецепторами в периферической крови при заражении мышей высокопатогенным гриппом H3N2 и ингаляционном отравлении фосгеном (рис. 16, 17).

Установлено, что БТШ70 и БТШ70-Fc в 2,3-2,7 раза уменьшали (P<0,01) число CD3⁺CD8⁺PD-1⁺ и CD3⁺CD8⁺PD-1⁺ТИМ-3⁺ Т-лимфоцитов в периферической крови у мышей при гриппозной геморрагической пнев-

монии и токсическом отеке легких при ингаляционном отравлении фосгеном (рис. 16, 17).

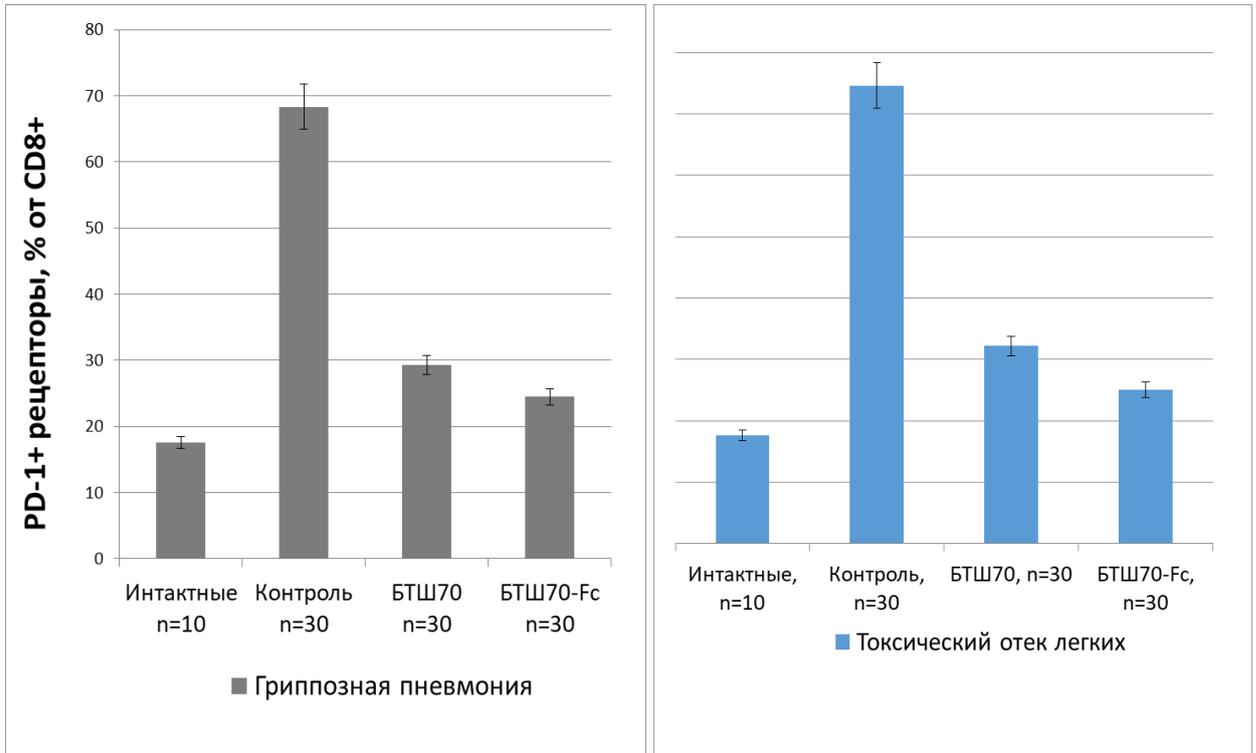


Рисунок 16. Влияние БТШ70 на число CD8+ Т-лимфоцитов с «тормозными» PD-1 рецепторами в крови у мышей при гриппозной пневмонии и токсическом отеке легких

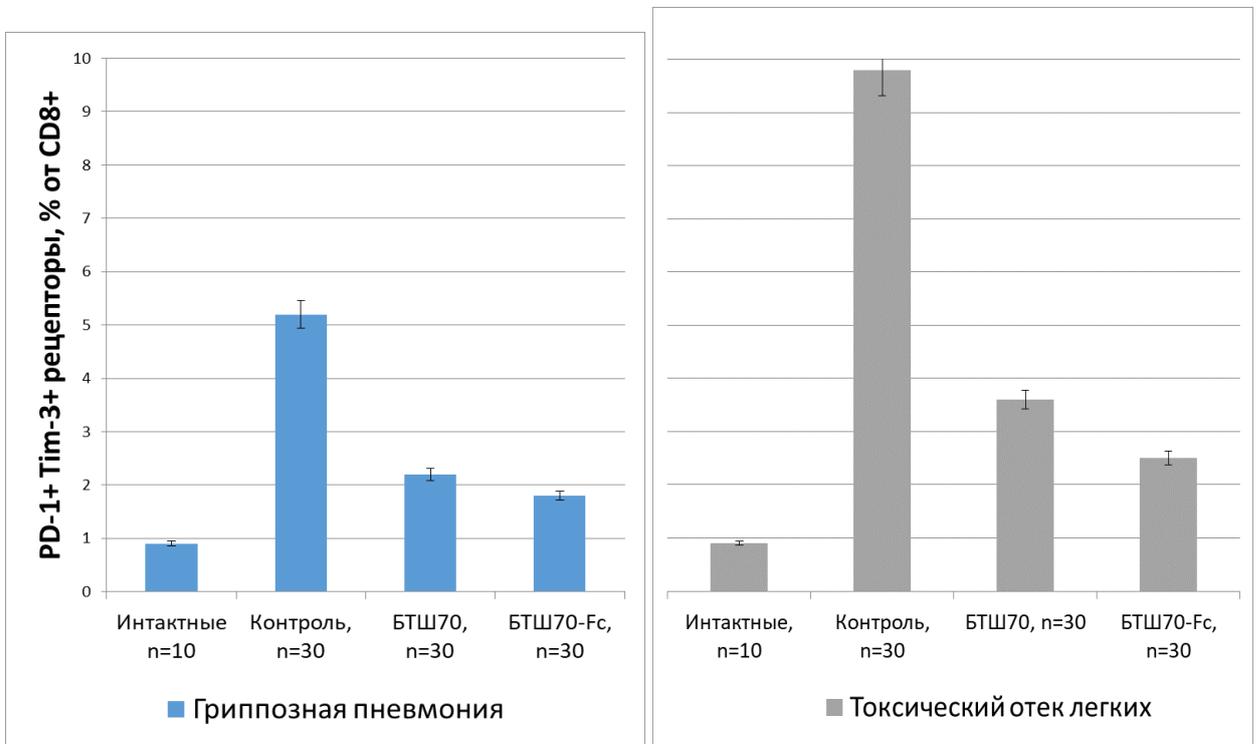


Рисунок 17. Влияние БТШ70 на число PD-1+Tim-3+ дубль-позитивных CD8+ Т-лимфоцитов в крови мышей при гриппозной пневмонии и токсическом отеке легких

Защитное действие БТШ70-Fc было достоверно выше, чем при использовании немодифицированного БТШ70 (рис 16, 17).

Снижение CD8⁺ Т-лимфоцитов с «тормозными» PD-1 рецепторами и PD-1+Tim3⁺ дубль-позитивных Т-лимфоцитов до 20% и 2% от общего количества CD8⁺ Т-лимфоцитов в периферической крови через 3 суток после интоксикации свидетельствовало с вероятностью не менее 90% о благоприятном прогнозе течения респираторного дистресс-синдрома (токсического отека легких) при ингаляционном отравлении фосгеном у мышей.

Установлено, что повышение числа CD8⁺ Т-лимфоцитов с PD-1 и Tim-3 рецепторами сопровождалось резким снижением содержания гранзима В в лимфоцитах периферической крови, что отражает развитие иммунной гипореактивности и анергии («иммунный паралич»).

БТШ70 и БТШ70-Fc препятствовали снижению уровня гранзима В в лимфоцитах периферической крови и ускоряли восстановление его содержания при высокопатогенном гриппе у мышей (рис.18).

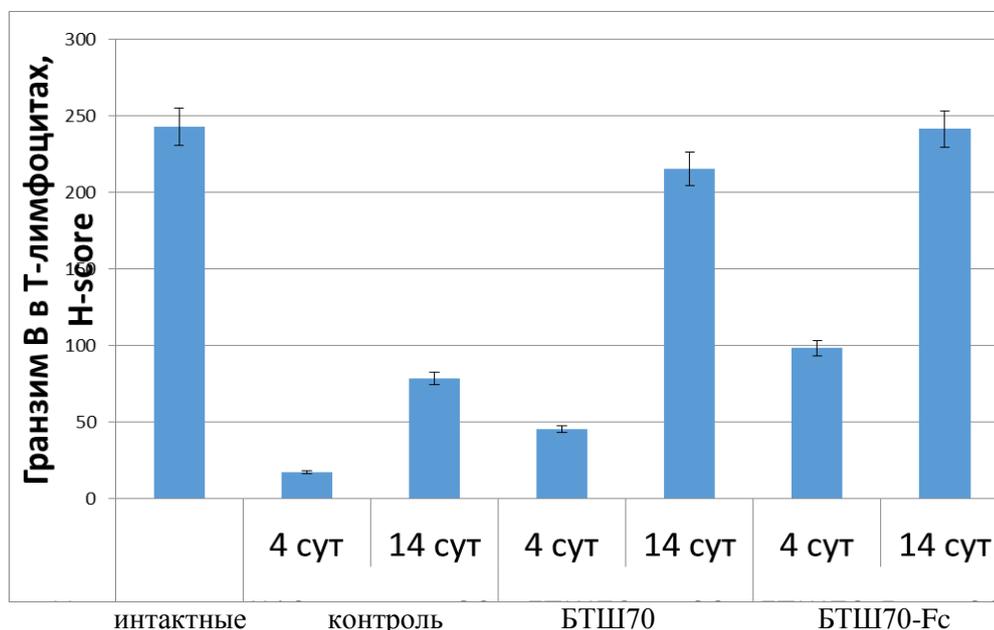


Рисунок 18. Влияние БТШ70 на уровень «гранзима В» в лимфоцитах при гриппозной пневмонии у мышей

Повышение содержания «гранзима В» в лимфоцитах коррелировало со снижением числа CD8⁺ Т-лимфоцитов с ингибиторными PD-1 и Tim-3 рецепторами и восстановлением Т-клеточной иммунной реактивности.

Полученные данные свидетельствуют о том, что БТШ70 и БТШ70-Fc предотвращали развитие респираторного дистресс-синдрома при отравлении фосгеном и высокопатогенной гриппозной инфекции.

Полученные данные послужили основой для изучения защитного эффекта модифицированного ЛПС, экзогенных БТШ70 и их сочетаний при летальной гриппозной вирусной инфекции у мышей, вызываемой ингаляционным заражением их вирусом H3N2 (табл. 15, рис. 19)

Таблица 15. Противовирусный защитный эффект модифицированного пучком электронов ЛПС, БТШ70 и их сочетаний при летальной гриппозной инфекции (3 ЛД₅₀) у мышей (n=20), вызванной вирусом H3N2

Группы животных, вводимое вещество, доза, время введения до заражения	Количество погибших животных	Выживаемость %
Физиологический раствор (контроль), 0,5 мл	19	5
ЛПС необработанный за 1 ч	20	0
ЛПС необработанный за 14 сут	13	35
БТШ70, 50 мкг, за 1 ч	12	40
БТШ70, 50 мкг, за 14 сут	7	75*
ЛПС, 150 кГр, за 1 ч	6	70*
ЛПС, 150 кГр, за 14 сут	7	75*
ЛПС, 150 кГр + БТШ70, 50 мкг, за 1 ч	4	80*
ЛПС, 150 кГр + БТШ70, 50 мкг, за 14 сут	3	85*

* – отличия достоверны по сравнению с контролем ($P \leq 0,05$)

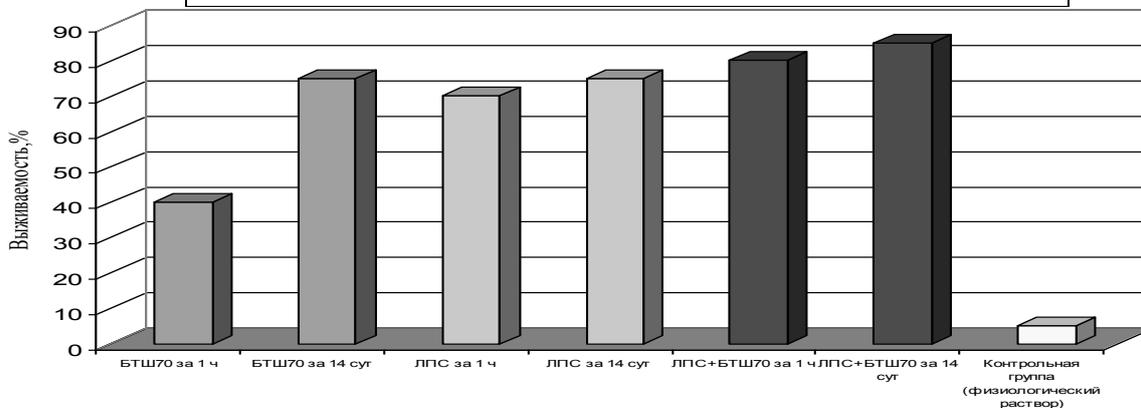


Рисунок 19. Эффективность защитного действия модифицированного пучком электронов ЛПС и его сочетания с БТШ70 от летальной гриппозной инфекции (3 ЛД₅₀) у мышей, вызванной вирусом H3N2.

Анализ полученных данных показал, что защитный эффект модифицированного эндотоксина и БТШ70 был выявлен при их ведении за 1 ч и за 14 сут до заражения. Это свидетельствует о том, что модифицированные ЛПС и БТШ70 обладают как непосредственным защитным эффектом, так и участвуют в формировании защитных иммунных реакций замедленного действия. При совместном применении эндотоксина и БТШ70 защитный эффект был наиболее выражен.

3.4. Повышение эффективности вакцинации

Иммуногенность противовирусных вакцин, как правило, слабая. В распознавании вирусных антигенных детерминант участвуют TLR4 рецепторы [79, 90]. БТШ и ЛПС могут применяться в качестве адъювантов противовирусных вакцин [52, 94, 146].

Это послужило основанием для проведения исследований по изучению влияния экзогенных БТШ70 и лазерной активации их секреции клетками кожи, а также нетоксичных производных бактериальных ЛПС на эффективность противогриппозной вакцины «Ваксигрип». Результаты исследований представлены в табл. 16.

Из данных табл. 16 следует, что экзогенный БТШ70, а также лазерная активация его секреции клетками кожи повышают эффективность противогриппозной вакцины «Ваксигрип» у мышей. Они способствуют активации специфического противовирусного иммунного ответа (РТМЛ с вакциной). Эффект наиболее выражен при одновременном внутрикожном введении вакцины и экзогенного БТШ70, а также при сочетании введения вакцины с лазерным облучением кожи в зоне инъекции.

Введение модифицированного пучком электронов (150 кГр) ЛПС в сочетании с вакциной значительно усиливает ее действие. Максимальный адъювантный эффект получен при сочетанном введении вакцины, БТШ70 и модифицированного ЛПС (табл. 16).

Таблица 16. Влияние БТШ70, мЛПС и лазерного облучения зоны внутрикожного введения вакцины «Ваксигрипп» на показатели клеточного иммунитета у мышей (по данным РТМЛ)

Группа животных, применяемое воздействие	Показатели РТМЛ / Время после вакцинации									
	48 ч		7 сут		14 сут		21 сут		28 сут	
	КонА %	В %	КонА %	В %	Ко-нА %	В %	Ко-нА %	В %	Ко-нА %	В %
Вакцина (контроль)	110,6 ±9,4	97,5 ±9,3	102,2 ±8,6	88,6 ±7,2	81,7 ±6,9	72,6 ±6,2	76,4 ±6,4	70,8 ±6,0	69,5 ±5,5	67,5 ±5,2
Вакцина + Лазер	105,1 ±8,8	91,8 ±8,2	76,6 ±6,4*	67,2 ±5,3*	67,8 ±5,4*	59,3 ±4,9*	63,4 ±5,3*	57,3 ±4,6*	61,6 ±4,9*	53,6 ±4,8*
Вакцина + БТШ70	102,0 ±8,1	85,8 ±7,6*	63,9 ±5,1*	57,1 ±4,5*	59,6 ±4,8*	52,6 ±4,3	61,0 ±4,9*	52,4 ±4,4*	60,8 ±4,8*	50,3 ±4,3*
Вакцина + мЛПС	100,1 ±8,2	87,3 ±7,5	60,1 ±4,8*	61,2 ±5,1*	62,5 ±5,1*	55,4 ±4,6*	62,7 ±5,2*	54,7 ±4,4*	61,1 ±5,0*	52,6 ±4,5*
Вакцина + мЛПС + БТШ70	97,5 ±8,8	84,6 ±7,1	59,6 ±4,8*	54,6 ±4,7*	59,1 ±4,9*	49,6 ±4,2*	56,4 ±4,6*	48,4 ±4,1*	54,3 ±4,2*	45,6 ±4,0*

Примечания: * - $P < 0,05$ по сравнению с контролем; КонА-конканавалин А; В - вакцинакj

Активация Т-клеточного иммунитета сопровождается сенсibilизацией лимфоцитов к модифицированной пучком электронов противогриппозной вакцине «Ваксигрипп».

Этот эффект отмечался при введении в сочетании с внеклеточным БТШ70, модифицированным ЛПС и при их комбинированном применении. В последнем случае происходит более ранняя активация системы противовирусного клеточного иммунного ответа

Выявлена прямая зависимость целевого эффекта от экспозиционной дозы лазерного излучения. Наиболее перспективные результаты получены при использовании импульсно-периодических лазеров, в частности лазера с активными средами на парах меди, который генерирует излучение одновременно в двух диапазонах – зеленом (510 нм) и желтом (578 нм).

Энергия импульса лазера достигает 12–20 кВт. Однако, лазерное излучение не вызывает термического повреждения клеток кожи, из-за короткой продолжительности (10–12 нс) и высокой частотой следования импульсов (5–15 кГц). Высокоинтенсивное воздействие лазера на клеточную поверхность по типу множественной микропунктуры может вызвать выраженную активацию клеток кожи, которая может проявляться значительным повышением содержания внеклеточного БТШ70 и других цитокинов в эпидермисе без

развития необратимого повреждения клеток кожи. Источником повышения содержания внеклеточного БТШ70, возможно, являются фибробласты и кератиноциты кожи.

Это подтверждают результаты исследований, проведенных на культуре клеток фибробластов мышей линии СЗН, облученной излучением CO₂-лазера. Кондиционированная культура клеток фибробластов стимулирует рост клеток в необработанной культуре. Установлен дозозависимый эффект лазерной активации секреции цитокинов фибробластами в культуральную среду (рис. 20).

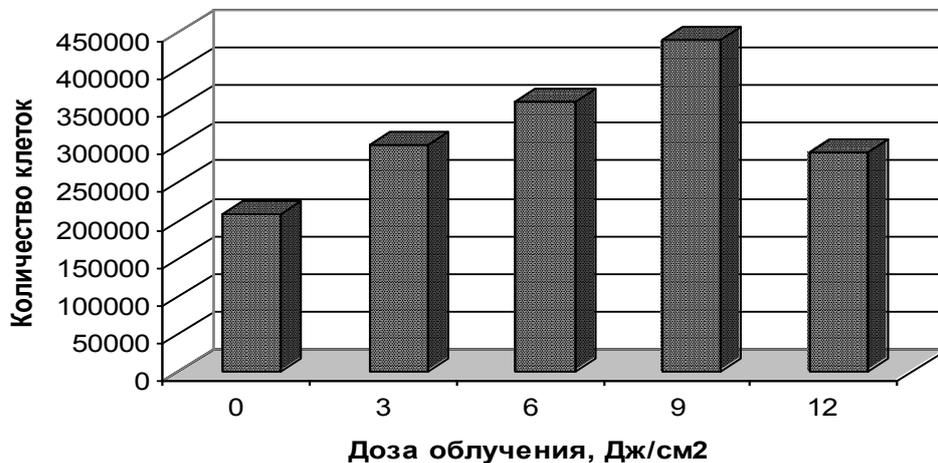


Рисунок 20. Изменение митотической активности интактных мышинных фибробластов FC3-1 при воздействии на них кондиционированной культуральной среды, облученных лазером клеток FC3-1

Это сопровождается миграцией клеток Лангерганса в зону лазерного облучения кожи с их последующей активацией.

Результаты электронной микроскопии свидетельствуют о том, что после «лазерной вакцинации» в зоне облучения активируются фибробласты, в цитоплазме которых образуется множество вакуолей, что отражает активный выброс цитокинов. Затем в зону облучения мигрирует большое число клеток Лангерганса, цитоплазма которых содержит зрелые гранулы Бирбека, в последующем на их месте образуются многочисленные вакуоли, что подтверждает активный выброс этих гранул (рис. 21).

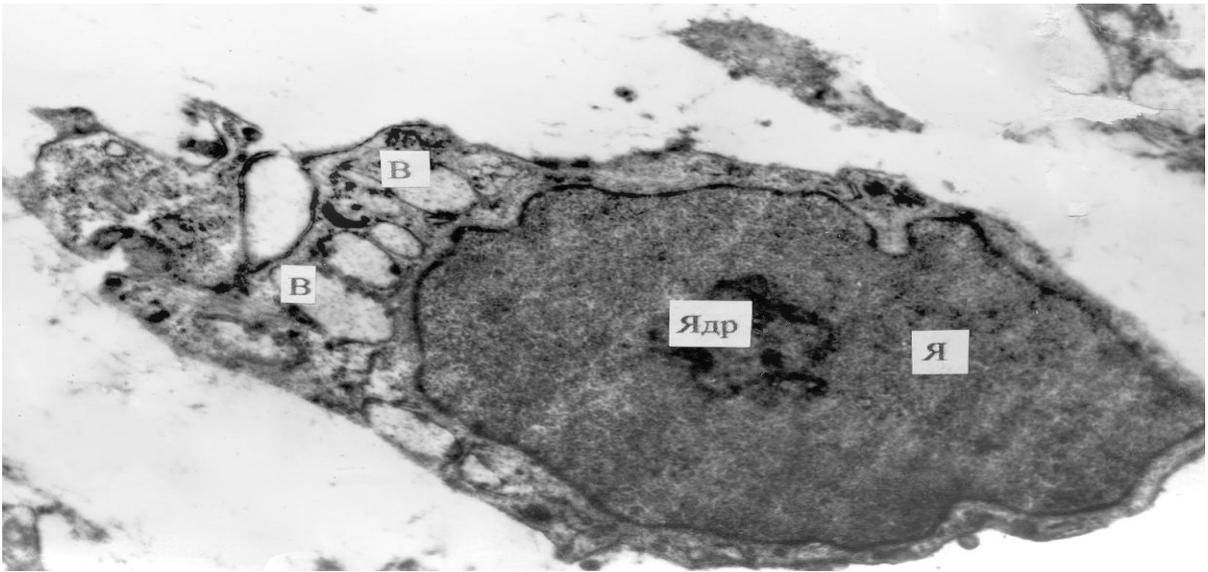
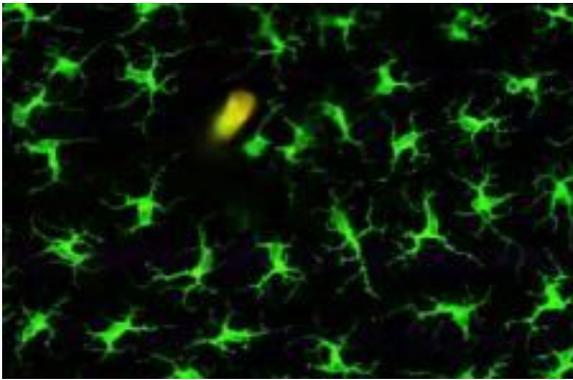
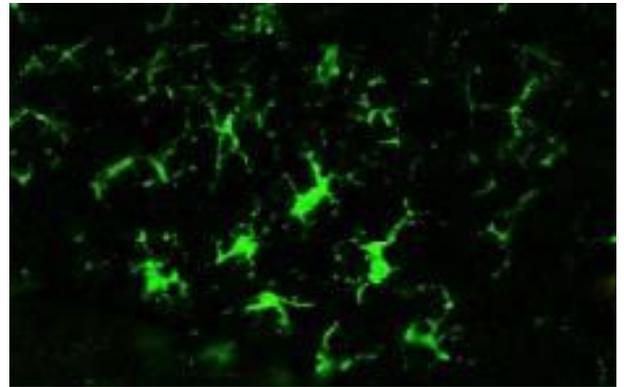


Рисунок 21. Электронная микроскопия вентрального среза кожи уха мыши через 48 ч после вакцинации. Стимуляция фибробластов при сочетанном воздействии лазерного излучения и внутрикожного введения вакцины Ваксигрип. Активный зрелый фибробласт с признаками высокой функциональной активности ядра (Я), ядрышка (Ядр) и цитоплазмы, содержащей значительное количество вакуолей (В).

Лазерная стимуляция секреции БТШ фибробластами вызывает миграцию клеток Лангерганса в зону лазерного облучения кожи и их последующую активацию (рис. 22 и 23).



А



Б

Рисунок 22. Клетки Лангерганса кожи вентральной поверхности уха мыши до (А) и через 5 сут (Б) после внутрикожного введения противогриппозной вакцины Ваксигрип в сочетании с экзогенным БТШ70 в дозе 50 мкг. Микрофотография ув. $\times 900$

БТШ и цитокины вызывают локальное увеличение количества антигенпредставляющих клеток Лангерганса и их активацию, которая проявляется образованием и секрецией специфических структур гранул Бирбека, появлением многочисленных отростков и вступлением их в плотный контакт с лимфоцитами. Дальнейшая активация клеток Лангерганса проявляется увеличением количества зрелых гранул Бирбека и появлением многочисленных

вакуолей, что подтверждает активный выброс гранул за пределы наружной клеточной мембраны (рис. 24).

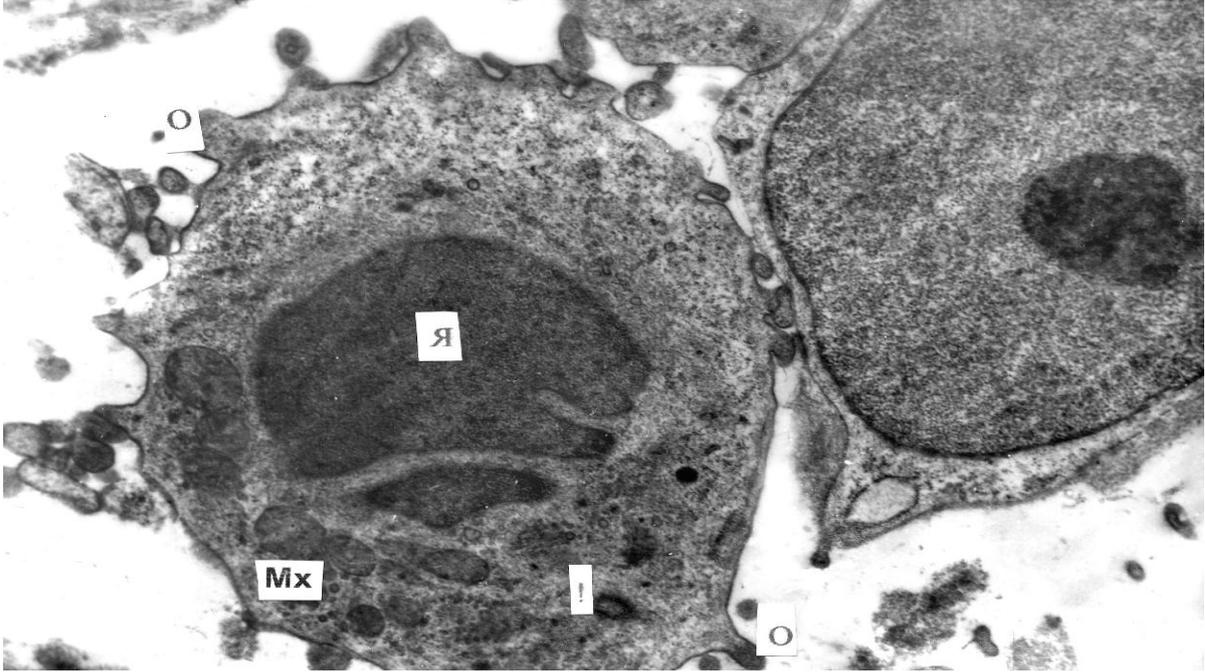


Рисунок 23. Электронная микроскопия вентрального среза кожи уха мыши через 48 ч после вакцинации. Стимуляция клеток Лангерганса при сочетанном воздействии лазерного излучения и внутрикожного введения вакцины Ваксигрип. Слева внизу – клетка Лангерганса с многочисленными отростками (О). Я – ядро с плотным состоянием гетерохроматина. М – митохондрии, с уплотненными кристами, Б – гранулы Бирбека. Рядом лимфоцит. Плотный контакт клетки Лангерганса с лимфоцитом представляет собой «морфофункциональный субстрат» феномена антиген-представляющей функции клеток Лангерганса *in situ*

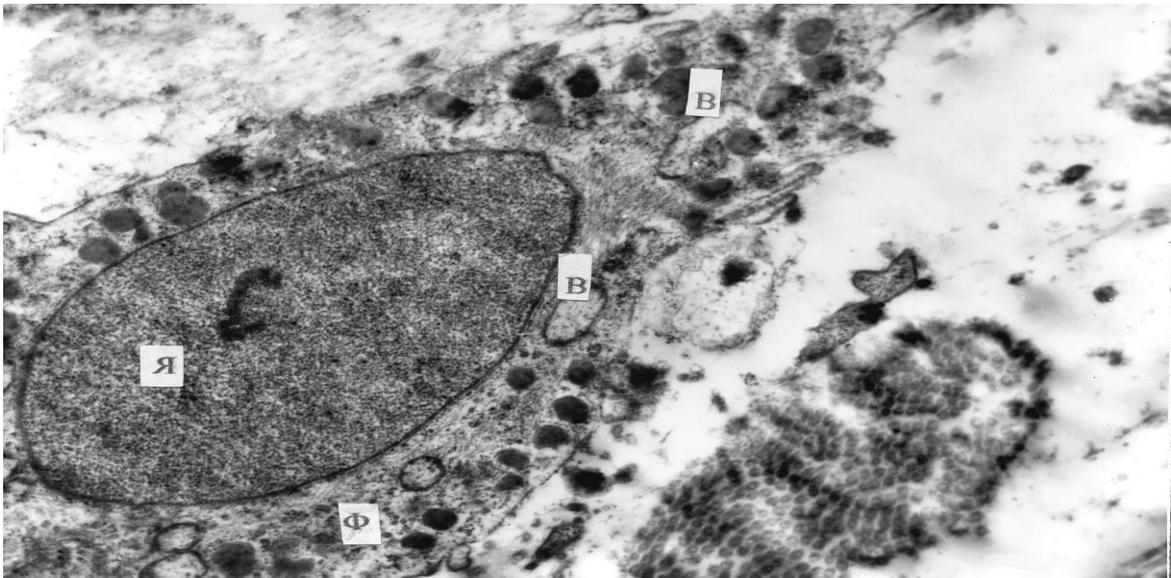
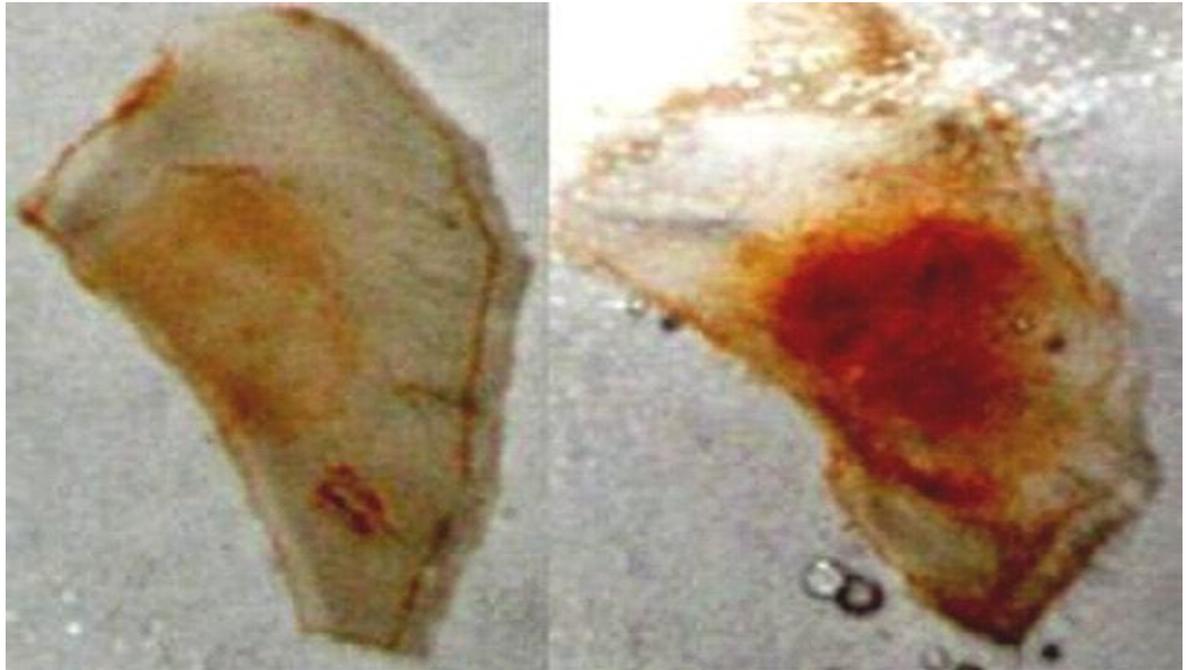


Рисунок 24. Электронная микроскопия вентрального среза кожи уха мыши через 7 сут после вакцинации. Стимуляция клеток Лангерганса при сочетанном воздействии лазерного излучения и внутрикожного введения вакцины Ваксигрип. Активная клетка Лангерганса с ядром (Я), имеющим гомогенное распределение хроматина, и активной цитоплазмой, содержащей зрелые гранулы Бирбека (Б) и многочисленные вакуоли (В), подтверждающие активный выброс гранул

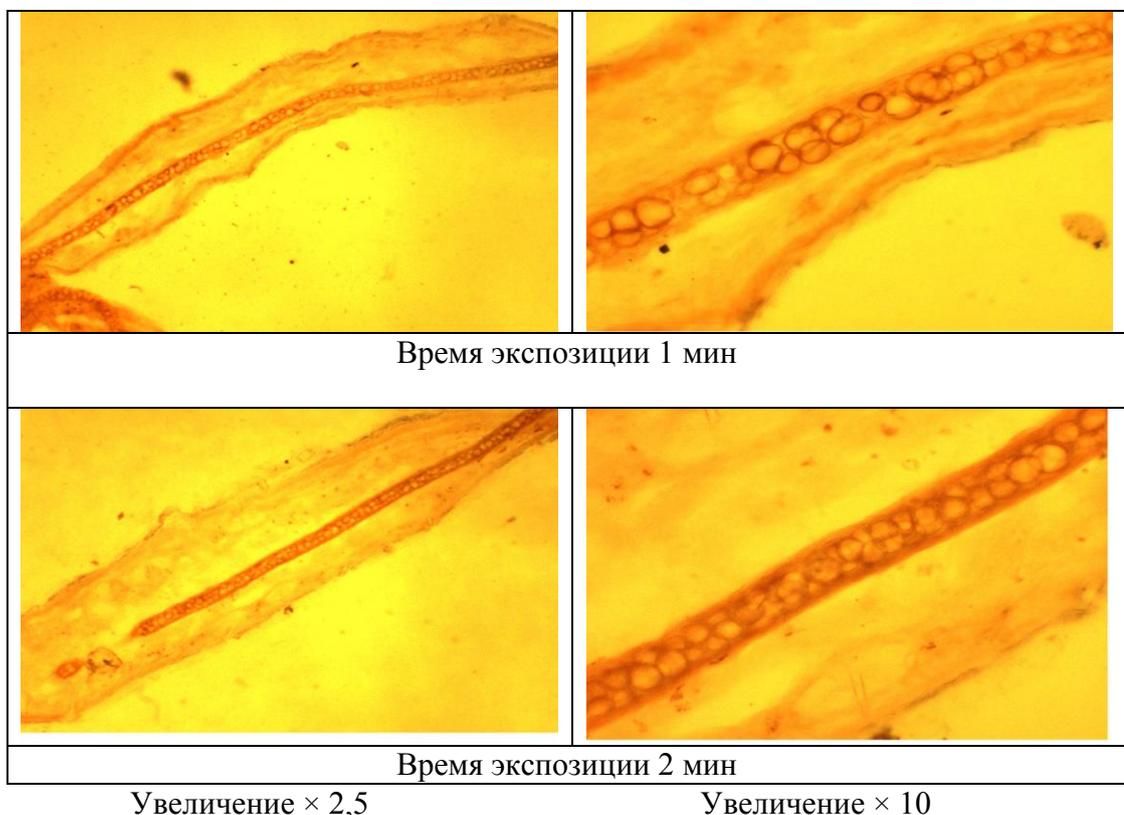
Установлено, что лазерное облучение кожи уха мышей вызывает дозозависимое увеличение содержания внеклеточного БТШ70 (рис. 25-26).



Время экспозиции 1 мин

Время экспозиции 2 мин

Рисунок 25. Изменение содержания БТШ70 в коже вентральной поверхности уха мыши в зависимости от экспозиционной дозы излучения лазера на парах меди



Время экспозиции 1 мин

Время экспозиции 2 мин

Увеличение $\times 2,5$

Увеличение $\times 10$

Рисунок 26. Изменение содержания БТШ70 в коже уха мыши в зависимости от экспозиционной дозы излучения лазера на парах меди

Результаты исследований содержания БТШ70 в коже уха мышей после введения вакцины и ее воздействия на нее излучения лазера на парах меди свидетельствуют о том, что лазерное облучение кожи вызывало дозозависимое повышение уровня БТШ70 в коже уха мышей.

Анализ динамики уровня БТШ70 в коже уха мышей показал, что наиболее выраженная активация его секреции отмечалась при одновременном введении вакцины с лазерным облучением, которая сохраняется в течение 7–14 сут. Эти данные согласуются с данными изучения состояния клеточного иммунитета.

Лазерное облучение кожи вызывает образование факторов миграции клеток, формирующих тканевой воспалительный инфильтрат (табл. 17).

Таблица 17. Изменения общего количества клеток (тканевой клеточный воспалительный инфильтрат) в коже уха мышей при воздействии излучения лазера

Длина волны, время экспозиции	Количество клеток в тканевом воспалительном инфильтрате кожи уха мышей в различные сроки после ее лазерного облучения						
	1 ч	2 ч	24 ч	48 ч	7 сут	14 сут	21 сут
Группа Контроля	46,4±1,4	48,2±1,6	49,6±1,7	45,6±1,6	47,9±1,8	48,4±1,5	47,2±1,9
512нм, 1 мин	45,6±1,6	47,9±1,9	48,7±1,8	47,3±2,0	48,4±1,8	51,1±2,2	48,4±2,0
512 нм, 2 мин	59,8±1,9*	55,4±1,5*	52,2±1,3	46,2±1,2	49,6±1,8	50,6±1,6	47,6±1,4
512 нм, 3 мин	62,1±2,0*	58,6±1,4*	56,0±1,5*	50,1±1,5*	47,8±1,6	49,1±2,1	46,5±1,9
578 нм, 1 мин	48,7±1,7	47,9±1,6	45,9±1,6	47,7±1,8	48,8±1,7	49,5±2,2	47,8±2,8
578 нм, 2 мин	56,6±1,9*	54,7±1,7*	53,4±1,7*	44,4±2,1	49,8±2,3	48,1±1,7	49,3±2,5
578 нм, 3 мин	58,5±1,9*	57,9±2,0*	58,7±1,9*	52,6±2,2*	45,5±2,2	48,8±2,3	48,4±1,9
578 нм + 512 нм, 1 мин	62,4±1,6*	64,5±1,9*	65,4±2,0*	68,8±2,4*	56,6±1,8*	51,1±2,1	50,2±2,3
578 нм + 512 нм, 2 мин	74,6±2,2*	79,8±2,3*	70,2±1,9*	71,1±2,3*	68,9±2,4*	56,5±2,2*	50,4±2,5
578 нм + 512 нм, 3 мин	80,2±2,5*	75,4±2,6*	54,8±2,7	49,9±2,4	52,6±2,7	44,3±3,3	45,1±2,9

* - отличия достоверны в сравнении с группой контроля (P≤0,05)

Эффект является дозозависимым и наиболее выражен при одновременном воздействии двух длин волн (510 и 578 нм) при экспозиции 3 мин. Клеточная воспалительная реакция кожи (реакция гиперчувствительности замедленного типа) продолжается не менее 28 сут. Это свидетельствует о том, что лазерное излучение обладает адьювантным эффектом, усиливающим антиген-специфический целевой иммунный ответ.

Воздействие лазера на поверхность кожи в области вакцинации дозозависимо повышает эффективность гуморального ответа на вакцину «Ваксигрип». Введение экзогенного БТШ70 вызывает аналогичный эффект (табл.18).

Таблица 18. Титр гемагглютинирующих антител к вакцине Ваксигрип через 28 сут после вакцинации

Группы животных	Титр антител через 28 сут после вакцинации (log ₂ (M±2m))
Контрольная группа (вакцина)	2.8 ± 0.3
Вакцина + лазер, экспозиция 1 мин	4.3 ± 0.3*
Вакцина + лазер экспозиция 2 мин	5.2 ± 0.4*
Вакцина + экзогенный БТШ70	4.7 ± 0.35*
Примечание: * - P ≤ 0,05 по сравнению с контролем	

Сочетанное воздействие противогриппозной вакцины «Ваксигрип» и внеклеточного БТШ70 значительно повышает эффективность противогриппозной вакцины. Следовательно, внеклеточный БТШ70 является ее адьювантом. Адьювантный эффект усиливается при сочетанном применении вакцины с радиомодифицированным ЛПС и экзогенным БТШ70.

Эффект наиболее выражен при внутрикожном введении вакцины в сочетании с БТШ70, а также при сочетании введения вакцины с лазерным облучением кожи в зоне инъекции.

Полученные результаты свидетельствуют о том, повышение эффективности противогриппозной вакцины при лазерном облучении кожи в области ее введения связано с мобилизацией эндогенных БТШ70 в эпидермисе с последующей активацией антигенпредставляющих клеток Лангерганса кожи и их миграцией в зону облучения. Это обеспечивает повышение иммуногенности вакцины при ее введении в зону облучения.

Выявлено, что иммунизация облученной пучком электронов вакцины Ваксигрип (H3N2) вызывает перекрестную активацию клеточного иммунного ответа против разных штаммов (H1N1, H3N2, H5N1) вирусов гриппа (табл. 19). Этот эффект не наблюдается при повышении дозы облучения вакцины до 100 кГр, что может быть связано с радиационной деградацией биомолекул.

Таблица 19. Развитие перекрестного иммунного ответа на H3N2, H1N1 и H5N1 антигены через 28 суток после введения вакцины «Ваксигрип» модифицированной пучком электронов в дозе 25-100 кГр, по данным РТМЛ с целевыми антигенами

Используемые в РТМЛ антигены	Контрольная группа животных, n= 36	Показатели РТМЛ через 28 сут после внутрикожного введения вакцины «Ваксигрип», 20 мкг/мышь, %			
		Интактная вакцина, n=12	Облученная пучком электронов вакцина, доза		
			25кГр, n=15	50кГр, n=14	100кГр, n=12
H3N2	92,4±7,1	87,5±8,9	48,6±5,4*#	57,5±6,5*#	74,7±6,7
H1N1	87,5±7,3	98,7±9,3	59,4±7,6*#	62,7±5,9*#	83,5±7,6
H5N1	95,3±9,8	99,5±10,1	64,1±7,9*#	68,5±8,1*#	91,1±6,4

Примечание: *- P≤0,05 в сравнении с группой контроля, # P≤0,05 в сравнении с группой с введением интактной вакцины «Ваксигрип».

Развитие перекрестного иммунного ответа может быть связано тем, что физическая модификация биомолекул вызывает экспонирование ранее скрытых антигенных эпитопов, общих для разных штаммов вирусов.

Эффективность противовирусной защиты при летальной гриппозной инфекции у мышей, вызванной вирусом H3N2 достоверно повышалась при совместном применении модифицированных пучком электронов вакцины «Ваксигрип» и парамиксовируса Сендай (штамм «Москва») за 14 сут до заражения. Титр вводимого вируса Сендай составил 3×10^7 эмбриональных инфицирующих дозы 50% (ЭИД₅₀).

При изолированном применении радиомодифицированной вакцины «Ваксигрип» выживаемость составила 55%, модифицированного пучком электронов вируса Сендай - 70% а при их сочетанном применении - 90%, P<0,05 (табл.20) .

Таблица 20. Противовирусная защита модифицированных пучком электронов (50 кГр) вируса Сендай, и вакцины «Ваксигрип» при летальной гриппозной инфекции у мышей (n=20), вызванной вирусом H3N2 (3 ЛД₅₀)

Вводимый препарат, доза	Количество погибших животных	Выживаемость %
Физиологический раствор (контроль), 0,5 мл	19	5
Вакцина «Ваксигрипп» немодифицир. 0,5 мл	15	25
Вакцина «Ваксигрипп» Модифицированная, 0,5 мл	9	55*
Вирус Сендай, 3 ЭИД ₅₀	11	45*
Вирус Сендай, 3 ЭИД ₅₀ + «Ваксигрипп» немодифир.	6	70*
Вирус Сендай 3 ЭИД ₅₀ + «Ваксигрипп» модифицир.	2	90*
* – отличия достоверны по сравнению с контролем (P≤0,05)		

3.5. Защита от поражений при общем γ -облучении и интоксикации циклофосфаном

Оценка защитных свойств мЛПС, БТШ70, БТШ70-ПЭГ и БТШ70-Fc при общем γ -облучении показала, что у животных, получавших мЛПС через 30 мин после облучения в дозе 10 Гр, выживаемость составила 56%, БТШ70-50%, БТШ70-Fc – 75%; сочетание мЛПС и БТШ70 – 83% (рис. 27)

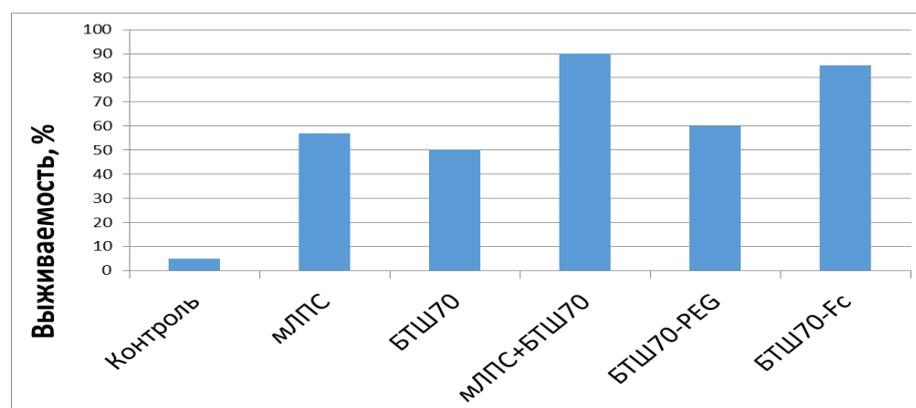


Рисунок 27. Влияние мЛПС, БТШ70 и их производные на выживаемость мышей при общем γ -облучении в дозе 10 Гр (*- P < 0,05 в сравнении с контролем)

При общем γ -облучении в дозе 6,5 Гр во всех группах животных отмечено снижение массы тела, начиная с 4 сут наблюдения уменьшение массы тела было наиболее выражено на 7 сут эксперимента в контрольной группе животных. Введение БТШ70 и мЛПС препятствовало развитию дефицита массы тела у мышей (P < 0,05).

Изолированный прием мЛПС и БТШ70 препятствовал развитию лейкопении на 7 и 14 сут после облучения в дозе 6,5 Гр и интоксикации циклофосфаном. Максимальный защитный эффект выявлен при сочетанном применении мЛПС и БТШ70 (табл. 21).

Таблица 21. Количество лейкоцитов в крови мышей (n=10) после общего γ -облучения в дозе 6,5 Гр, острой и хронической интоксикации циклофосфаном в различные сроки наблюдения

Группы животных, вводимые препараты		Кол-во лейкоцитов, $\cdot 10^3$ /мкл / Время наблюдения, сут			
		7 сут	14 сут	21 сут	28 сут
Общее гамма-облучение, 6,5 Гр	Контрольная группа	0,32±0,04	0,61±0,09	1,84±0,31	2,22±0,40
	мЛПС	0,48±0,04	1,27±0,31	4,80±0,52*	5,63±0,54*
	БТШ70	0,56±0,05	1,63±0,35*	5,10±0,55*	5,90±0,52*
	мЛПС+БТШ70	0,68±0,05*	7,15±0,71*	6,80±0,57*	6,83±0,55*
Острая интоксикация ЦФ	Контрольная группа	0,15±0,03	0,35±0,04	0,85±0,06	1,92±0,18
	мЛПС	0,89±0,07*	1,45±0,15*	4,26±0,35*	4,93±0,54*
	БТШ70	1,97±0,15*	1,75±0,16*	4,31±0,35*	5,22±0,58*
	мЛПС+БТШ70	1,90±0,15*	7,32±0,58*	5,40±0,49*	6,10±0,55*
Хроническая интоксикация ЦФ	Контрольная группа	0,09±0,03	0,21±0,04	0,86±0,06	2,36±0,18
	мЛПС	0,94±0,08*	1,78±0,16*	3,94±0,32*	3,78±0,34*
	БТШ70	1,06±0,06*	2,11±0,12*	4,42±0,25*	4,95±0,27*
	мЛПС+БТШ70	1,54±0,13*	6,91±0,55*	6,35±0,52*	6,25±0,53*
	Интактные	6,20±0,30	6,0±0,25*	6,15±0,20	6,05±0,30*

Примечание: * - $P \leq 0,05$ в сравнении с группой контроля

Продолжительность тяжелой лейкопении (число лейкоцитов менее 500 в 1 мкл) при ионизирующем облучении в дозе 6,5 Гр, острой и хронической интоксикации циклофосфаном была наименьшей при использовании сочетания мЛПС с БТШ70: 7,2±0,3; 10,1±0,4 и 8,6±0,2 сут. При изолированном их применении продолжительность тяжелой лейкопении составила 8,4±0,5 и 9,6±0,8 сут, 14,7±0,9 и 16,7±1,0 сут, 18,5±1,1 и 15,7±1,2 сут, соответственно. Продолжительность тяжелой лейкопении в группах контроля была 14,9±1,2; 20,7±1,3 и 26,8±1,6 сут, соответственно.

Продолжительность тяжелой лейкопении была наименьшей при использовании БТШ70-Fc – 5,8±0,3 суток; при введении БТШ70-PEG – 9,7±0,6 суток. БТШ70 и его производные достоверно снижают продолжительность тяжелой лейкопении в сравнении с показателями группы контроля – 8,5 ± 0,9 и 14,6±1,2 сут., соответственно.

Лейкопения на 7 и 14 сутки наблюдения была наименее выражена у мышей, получавших БТШ70-Fc. При применении БТШ70 и БТШ70-PEG она была достоверно ниже, чем в группе контроля (табл. 22).

Таблица 22. Влияние БТШ70 и его производных пролонгированного действия на количество лейкоцитов в крови мышей после общего γ -облучения в дозе 6,5 Гр в различные сроки наблюдения

Группы животных, вводимые препараты		Кол-во лейкоцитов, $10^3/\text{мкл}$, Время наблюдения, сут			
		7 сут	14 сут	21 сут	28 сут
Общее гамма-облучение, 6,5 Гр	Контроль	0,32±0,04	0,61±0,09	1,84±0,31	2,22±0,40
	БТШ70 профилактика	0,33±0,04	1,35±0,07*	3,75±0,33*	5,48±0,42*
	БТШ70-PEG профилактика	0,43±0,06	1,75±0,35*	4,27±0,40*	5,95±0,64*
	БТШ70-Fc профилактика	0,74±0,05*	3,09±0,35*	5,65±0,45*	6,55±0,54*
	БТШ70 лечение	0,46±0,05	1,29±0,34	4,84±0,48*	5,74±0,56*
	БТШ70-PEG лечение	0,55±0,07	1,68±0,37*	5,25±0,55*	5,94±0,57*
	БТШ70-Fc лечение	0,78±0,06*	8,27±0,85*	6,70±0,67*	6,58±0,61*
Интактная		6,20±0,30	6,0±0,25*	6,15±0,20	6,05±0,30*
Примечание - * – различия статистически значимы по сравнению с группой контроля ($P \leq 0,05$);					

Результаты РТМЛ свидетельствуют о том, что общее γ -облучение и интоксикация циклофосфаном подавляют клеточный иммунитет и препятствует активации лейкоцитов в ответ на воздействие ЛПС, Г-КСФ, Э-КСФ.

Чувствительность лейкоцитов к ЛПС, Г-КСФ и Э-КСФ наиболее эффективно восстанавливалась у животных, получавших БТШ70-Fc в сравнении с БТШ70 и БТШ70-ПЭГ, а также при сочетанном применении БТШ70 и мЛПС (табл.23).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что БТШ70, БТШ70-ПЭГ, БТШ70-Fc и мЛПС препятствовали развитию миелосупрессии и иммунных нарушений, а также повышали выживаемость подопытных животных после воздействия общего γ -облучения, острой и хронической интоксикации электрофильными алкилирующими соединениями (циклофосфаном). Миелопротективный эффект усиливался при сочетанном применении мЛПС и БТШ70 (табл.23, 24).

Таблица 23. Влияние БТШ70 и его производных пролонгированного действия на РТМЛ через 7 суток после общего γ -облучения, острой и через 48 ч после завершения хронической интоксикации циклофосфаном

Группы животных вводимые препараты	РТМЛ, % от контроля			
	КонА	ЛПС	Г-КСФ	Э-КСФ
Интактные	110,0±13,6	120,0±16,4	98,6±15,3	95,0±8,3
Гамма-облучение 6,5 Гр				
Контрольная группа	143,8±9,2	132,8±8,9	156,3±11,0	173,4±10,3
Профилактика				
БТШ70	78,5±9,4*	88,7±7,5*	88,6±12,5*	73,5±7,8*
БТШ70-PEG	75,2±6,0*	75,8±6,5*	85,1±11,2*	78,5±9,8*
БТШ70-Fc	67,1±7,8*	65,6±7,8*	60,5±10,3*	61,5±8,5*
мЛПС	106,4±9,2*	78,6±7,1	72,6±11,3	70,8±7,6
БТШ70	97,1±5,8*	71,6±6,0	82,1±9,4	77,3±9,5
мЛПС+БТШ70	77,1±8,2*	68,6±6,9	69,4±9,4	61,3±6,4
Лечение				
БТШ70	92,5±9,7*	88,1±8,3*	78,5±6,8*	77,7±9,3*
БТШ70-PEG	79,4±9,7*	71,5±7,7*	75,6±9,8*	65,6±8,2*
БТШ70-Fc	67,6±6,3*	65,2±5,5*	60,7±8,5*	53,7±6,8*
мЛПС	98,4±8,5*	78,3±8,1	68,8±6,2	76,7±8,1
мЛПС+БТШ70	85,3±6,0*	65,2±5,9	74,7±8,8	52,6±6,7 ^{*)}
Циклофосфан, однократно, 250 мг/кг, в/брюшинно				
Контрольная группа	156,3±10,2	148,7±9,7	167,1±10,9	191,6±12,2
мЛПС	101,6±10,7	82,7±9,2	67,2±10,8	69,2±8,1
БТШ70	102,4±11,6	75,4±7,8	69,4±8,4	74,5±8,8
мЛПС+БТШ70	75,1±5,2 ^{*)}	61,4±7,0 ^{**)}	48,6±6,7 ^{*)}	45,7±5,7 ^{*)}
Циклофосфан, ежедневно, 20 мг/кг, в/брюшинно, 10 сут				
Контрольная группа	148,6±11,0	172,2±10,8	198,2±12,3	202,2±14,7
мЛПС	95,7±9,5	85,2±8,2	74,5±11,2	76,6±9,8*
БТШ70	108,9±10,2	80,6±9,6	79,8±9,4	75,3±9,7
мЛПС+БТШ70	86,4±6,9	74,7±9,8	48,7±6,9 ^{*)}	52,4±7,8*
Примечания: * - различия достоверны по сравнению с группой контроля P≤0,05				

Одним из механизмов защитного эффекта этих биомолекул является повышение чувствительности лейкоцитов к ЛПС, Г-КСФ, Э-КСФ

Установлено, что БТШ70 и мЛПС препятствовали снижению массы селезенки, которое были наиболее выражено в группе контроля на 7 сут после общего γ -облучения в дозе 6,5 Гр. и интоксикации циклофосфаном.

Это свидетельствует о миелопротекторном эффекте БТШ70 и мЛПС, особенно при их сочетанном применении (табл. 24, рис. 29).

Таблица 24. Влияние БТШ70 и мЛПС на массу селезенки у мышей (n=10) после общего γ -облучения в дозе 6,5 Гр, острой и хронической интоксикации циклофосфаном

Группы животных,	Селезеночный коэффициент/Время наблюдения, сут
------------------	--

вводимые препараты	3 сут	7 сут	14 сут	28 сут
Общее гамма-облучение, 6,5 Гр				
Контрольная	1,3±0,1	1,6±0,1	3,1±0,4	3,5±0,3
Общее гамма-облучение Профилактика				
мЛПС	3,1±0,4*	4,0±0,6*	6,9±1,0**	7,0±0,9*
БТШ70	1,4±0,1	1,9±0,2	4,5±0,5*	4,9±0,6
мЛПС+БТШ70	3,9±0,4*	4,6±0,4*	8,3±1,0*	7,9±0,5*
Общее гамма-облучение лечение				
мЛПС	2,9±0,3*	3,7±0,7*	7,6±0,9*	7,8±1,2*
БТШ70	2,5±0,1*	3,3±0,3*	7,2±0,8*	7,4±1,1*
мЛПС+БТШ70	4,2±0,5*	4,9±0,3*	7,9±0,9*	8,1±0,7*
Острая интоксикация циклофосфаном				
Контрольная	1,2±0,2	1,3±0,1	2,8±0,3	3,3±0,2
мЛПС	2,7±0,4*	3,4±0,5*	6,9±1,1*	7,1±1,0*
БТШ70	2,3±0,3*	3,1±0,4*	6,5±0,7*	6,8±0,9*
мЛПС+БТШ70	3,9±0,6*	5,1±0,6*	6,7±0,7*	7,6±0,8*
Хроническая интоксикация циклофосфаном				
Контрольная	0,9±0,1	1,2±0,2	2,9±0,2	3,5±0,1
мЛПС	2,4±0,5*	3,1±0,4*	6,2±0,9*	6,4±1,1*
БТШ70	2,2±0,8	2,9±0,6*	6,7±0,8*	6,4±0,6*
мЛПС+БТШ70	3,7±0,8*	4,9±0,7*	6,1±0,9*	6,9±1,0*
Интактные животные	6,8±0,6	7,6±0,8	7,8±0,9	7,9±0,7
Примечания: БТШ70 – белок теплового шока, мЛПС – модифицированный липополисахарид, * - P≤0,05 по отношению к контрольной группе				

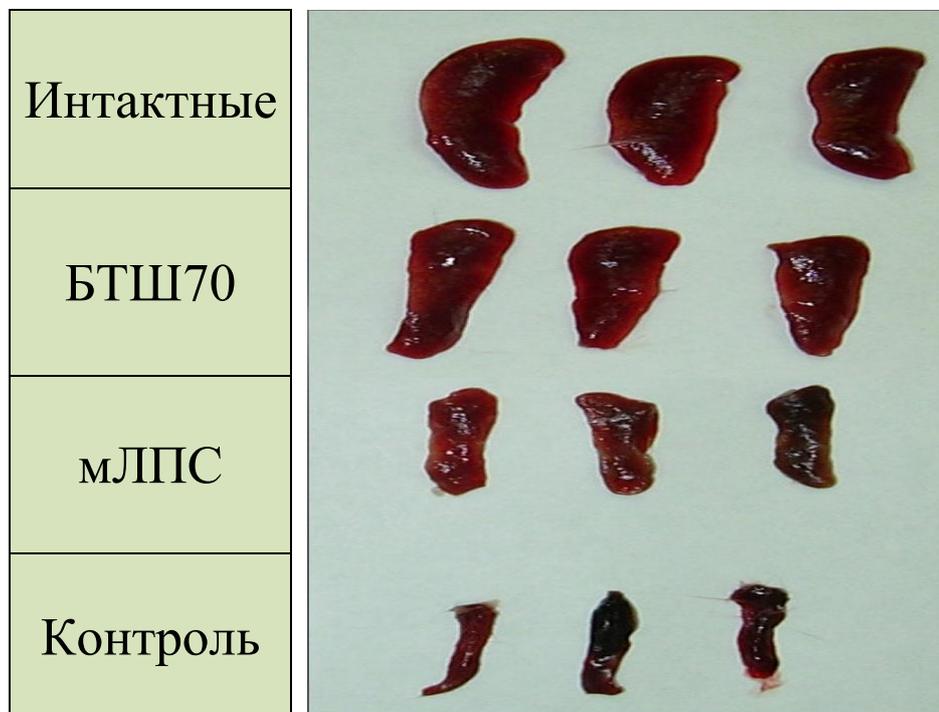


Рисунок 28. Внешний вид селезенок мышей через 7 сут после общего γ -облучения в дозе 6,5 Гр.

Полученные данные свидетельствуют о том, что мЛПС, БТШ70 и производные БТШ70 пролонгированного действия могут быть перспективными

средствами профилактики и ранней патогенетической терапии радиационных и химических поражений, обусловленных воздействием электрофильных алкилирующих соединений.

3.6. Защитный эффект продукта лазерной активации дрожжевой культуры при общем γ -облучении и интоксикации циклофосфаном у мышей

Анализ результатов изучения радиопротективной активности продукта лазерной активации дрожжевой культуры *Saccaromyces cerevisiae* при общем γ -облучении в дозе 5,5 Гр показал, что ее профилактический прием (за 7 сут до облучения) приводил к значительному повышению выживаемости до 93 % (контрольная группа – 53 %) (табл. 25).

Таблица 25. Влияние ПЛАДК на выживаемость мышей при общем рентгеновским облучении в дозе 5,5 Гр

Группа мышей	Кол-во мышей	Кол-во выживших	Выживаемость, %	Коэффициент Калусинера
1-я	30	28	93*	0,99
2-я	30	27	90*	0,92
3-я	30	18	60	0,79
4-я	30	16	53	0,71
5-я	30	30	100	1

Примечания: * – различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P < 0,05$); 1-я группа животных получала пастеризованный ПЛАДК; 2-я – непастеризованный ПЛАДК; 3-я – пастеризованную неактивированную дрожжевую культуру; 4-я (контрольная) – воду; 5-я – интактные животные.

Профилактический прием продукта лазерной активации дрожжевой культуры предотвращает развитие гипотрофии (дефицита массы тела) под влиянием ионизирующего излучения. Эффект был наиболее выражен в группе животных, получавших пастеризованный ПЛАДК (рис. 29).

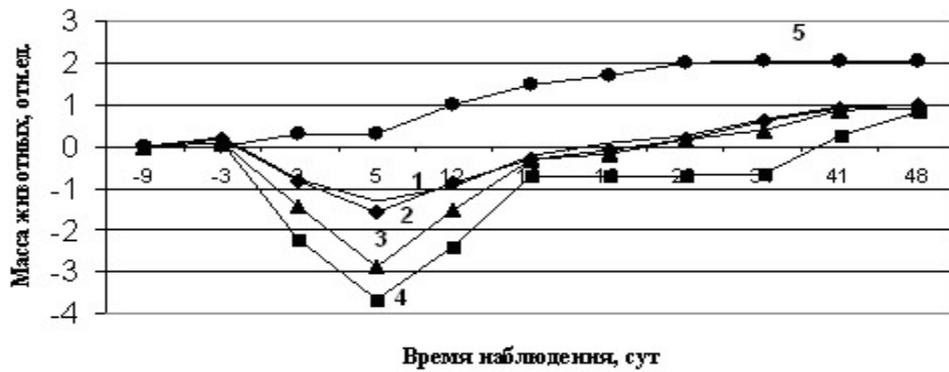


Рисунок 29. Изменение массы тела мышей, при общем гамма-облучении (5,5 Гр).
Примечания: 1-я группа животных получала патеризированный ПЛАДК; 2-я – непастеризированный ПЛАДК; 3-я – пастеризированную неактивированную дрожжевую культуру; 4-я (контрольная) – воду; 5-я – интактные животные

Анализ полученных данных позволяет сделать вывод, что профилактический прием ПЛАДК увеличивает выживаемость и среднюю продолжительность жизни облученных животных, предотвращает развитие дефицита массы тела. ПЛАДК обладает свойствами радиопротектора.

Ионизирующее излучение подавляет аэробные механизмы обеспечения структурно-функциональной целостности клеток крови. ПЛАДК предотвращает развитие этих изменений. Этот эффект выявлен на третьей неделе эксперимента – (по данным активности СДГ, табл. 26).

ПЛАДК стимулирует анаэробные процессы энергообеспечения структурно-функциональной целостности лейкоцитов с третьей недели после облучения – (по данным активности ЛДГ, табл.27).

Таблица 26. Влияние ПЛАДК на активность СДГ в лейкоцитах мышей при общем γ -облучении в дозе 5,5 Гр

Время исследования, сут	Группы животных				
	1-я	2-я	3-я	4-я	5-я
8	6,00±0,10	6,10±0,11	6,30±0,10	6,00±0,11	6,51±0,08
15	6,07±0,07	6,41±0,07	5,49±0,08	5,80±0,07	6,53±0,06
22	5,91±0,09*	5,84 ±0,10*	5,20±0,09	5,04±0,12	6,52±0,11*
29	5,92±0,11*	5,86±0,05*	5,62±0,09*	5,36±0,14	6,49±0,09*
36	6,22±0,10*	5,98±0,11*	5,48±0,06	5,45±0,06	6,55±0,10*
43	6,62±0,06*	6,28±0,09*	5,53±0,05	5,47±0,09	6,58±0,08*
50	6,36±0,06*	6,17 ±0,06*	5,35±0,06	5,42±0,05	6,54±0,06*
56	6,20±0,06*	6,20 ±0,11*	5,21±0,13	5,41±0,08	6,55±0,08*

Примечание: * – достоверные отличия от группы контрольных животных ($P \leq 0,05$)

Таблица 27. Влияние ПЛАДК на активность ЛДГ в лейкоцитах мышей при общем γ -облучении в дозе 5,5 Гр

Время исследования, сут	Группы животных				
	1-я	2-я	3-я	4-я	5-я
8	5,13±0,06	4,90±0,06	5,50±0,10	5,40±0,09	5,78±0,08
15	5,65±0,08*	5,53±0,07*	4,86±0,07	4,81±0,04	5,79±0,06*
22	5,86±0,05*	5,84 ±0,10*	5,05±0,03*	5,20±0,03	5,77±0,08*
29	6,02±0,05*	6,22±0,03*	5,32±0,04	5,42±0,03	5,82±0,02*
36	6,16±0,02*	6,04±0,02*	5,07±0,03	5,10±0,02	5,78±0,02*
43	5,60±0,02*	5,86±0,04*	4,98±0,02	4,88±0,03	5,75±0,02*
50	5,71±0,04*	5,64 ±0,06*	4,94±0,02	4,91±0,03	5,77±0,07*
56	5,73±0,04*	5,72 ±0,05*	4,72±0,09	4,40±0,05	5,76±0,05*

Примечание:* – достоверные отличия от группы контрольных животных ($P \leq 0,05$)

В контрольной группе выявлено прогрессирующее развитие функциональной недостаточности клеточного звена иммунитета, начиная с третьей недели эксперимента (по данным РТМЛ с Кона ЛПС и Г-КСФ).

ПЛАДК предотвращает развитие недостаточности клеточного звена иммунитета и стимулирует секрецию цитокинов, повышающих функциональную активность Т-звена иммунитета с третьей недели, с максимальной выраженностью на 5–6 неделе наблюдения (табл. 28-30).

Таблица 28. Влияние ПЛАДК на показатели РТМЛ крови мышей с Кона после общего γ -облучения в дозе 5,5 Гр

Время исследования, сут	Группы животных				
	1-я	2-я	3-я	4-я	5-я
8	92,3±15,8*	105,8±9,3*	101,9±6,9*	162,4±4,7	82,3±5,8*
15	42,0±8,3*	51,6±6,7*	75,3±5,6*	124,6±13,4	83,4±6,5*
22	43,3±3,6*	65,3±3,5*	113,6±8,3	113,2±3,2	85,8±1,8*
29	41,8±2,8*	53,3±1,6*	117,9±6,8*	148,6±7,4	79,4±0,81*
36	51,8±1,5*	107,2±2,7*	154,5±7,3	165,3±4,2	81,2±1,4*
43	63,4±0,3*	138,4±1,2	128,0±5,8	132,1±5,7	81,3±0,9*
50	144,1±2,1	126,2±7,7	130,0±5,2	131,6±5,5	80,4±5,2*
56	130,7±6,4	175,0±7,1*	124,1±8,4	134,3±7,6	84,1±6,8*

Примечание:* – достоверные отличия от группы контрольных животных ($P \leq 0,05$)

Таблица 29. Влияние ПЛАДК на показатели РТМЛ крови мышей с ЛПС после общего γ -облучения в дозе 5,5 Гр

Время исследования, сут	Группы животных				
	1-я	2-я	3-я	4-я	5-я
8	95,6±10,4*	87,4±6,5*	86,6±8,9*	153,7±3,3	86,2±4,8*
15	72,0±3,6*	60,3±7,8*	79,3±4,6	82,7±4,4	83,1±3,5
22	60,5±3,1*	63,4±2,3*	94,6±5,2	82,3±3,4	82,5±2,3
29	55,4±2,3*	54,3±2,7*	82,0±6,3*	130,1±9,7	85,6±3,7*
36	66,3±2,4*	79,6±2,5*	103,6±7,9*	124,6±8,4	87,1±3,6*
43	83,5±4,1*	102,2±4,0*	122,0±8,1	132,1±6,6	84,1±3,2*
50	97,6±2,7*	119,4±5,4*	126,8±7,0	142,5±7,4	86,2±4,5*
56	114,2±8,4*	139,5±3,8	127,3±7,3	144,6±7,7	85,6±5,7*

Примечание:* – достоверные отличия от группы контрольных животных ($P \leq 0,05$)

Таблица 30 . Влияние ПЛАДК на показатели РТМЛ крови мышей с Г-КСФ после общего γ - облучения в дозе 5,5 Гр

Время исследования, сут	Группы животных				
	1-я	2-я	3-я	4-я	5-я
8	181,3± 9,8*	155,8±8,1*	144,0±6,1	160,1±8,9	152,2±7,8
15	80,4±4,2*	128,4±4,0	112,2±5,0	125,4±8,4	151,1±7,2*
22	67,9±2,8*	109,0±2,1	110,1±5,6	113,2±6,6	150,1±8,8*
29	113,4±8,3*	139,6±8,8	160,0±7,4	150,0±7,8	152,6±5,4
36	133,4±4,6*	162,6±1,1*	205,7±7,7	223,4±9,9	150,2±7,8*
43	143,5±2,7*	178,1±8,9*	182,0±9,3*	234,8±9,3	154,1±8,2*
50	125,3±3,8*	161,2±6,2*	171,8±1,9*	208,2±8,8	153,1±8,3*
56	107,5±7,3*	121,1±10,4*	139,3±5,8*	221,1±7,9	151,3±7,2*

Примечание:* – достоверные отличия от группы контрольных животных ($P \leq 0,05$)

Ионизирующее излучение активирует образование перекисных соединений в лейкоцитах. ПЛАДК предупреждал активизацию перекисных процессов у мышей – (по данным НСТ-теста, табл. 31).

Выявлено снижение показателей ЛКТ-теста на 2–3 неделе эксперимента у облученных животных, получавших ПЛАДК, табл. 32.

Таблица 31. Влияние ПЛАДК на показатели НСТ- теста у мышей при общем γ -облучении в дозе 5,5 Гр

Время исследования, сут	Группы животных				
	1-я	2-я	3-я	4-я	5-я
8	0,14±0,03*	0,17±0,04*	0,20±0,04	0,22±0,03	0,12±0,03*
15	0,20±0,04*	0,22±0,03*	0,29±0,04	0,28±0,04	0,11±0,03*
22	0,23±0,03*	0,21±0,04*	0,35±0,05	0,36±0,04	0,13±0,04*
29	0,24±0,04*	0,22±0,05*	0,40±0,05	0,39±0,04	0,15±0,04*
36	0,28±0,04*	0,25±0,04*	0,37±0,04	0,42±0,05	0,15±0,03*
43	0,22±0,03*	0,24±0,04	0,30±0,05	0,36 ±0,05	0,14±0,04*
50	0,23±0,04	0,21±0,03	0,22±0,04	0,19±0,04	0,13±0,05
56	0,19±0,04	0,18±0,04	0,19±0,03	0,15±0,05	0,12±0,05
Примечание:* – достоверные отличия от группы контрольных животных ($P \leq 0,05$)					

Таблица 32. Влияние ПЛАДК на показатели ЛКТ- теста у мышей при общем γ - облучении в дозе 5,5 Гр

Время исследования, сут.	Группы животных				
	1-я	2-я	3-я	4-я	5-я
8	1,06±0,01	1,01±0,02	1,01±0,03	1,01±0,03	1,25±0,09*
15	0,98±0,02*	1,01±0,02	1,08±0,02	1,10±0,04	1,29±0,06*
22	1,01±0,03*	1,01±0,02	1,11±0,03	1,12±0,06	1,24±0,04*
29	1,19±0,05	1,15±0,04	1,11±0,03	1,10±0,04	1,26±0,05*
36	1,22±0,08	1,19±0,03	1,13±0,04	1,14±0,03	1,31±0,05*
43	1,15±0,08	1,21±0,06	1,15±0,08	1,17±0,08	1,29±0,04*
50	1,10±0,04	1,20±0,05	1,17±0,07	1,13±0,03	1,24±0,05*
56	1,09±0,06	1,27±0,08	1,08±0,06	1,14±0,03	1,27±0,07*
Примечание:* – достоверные отличия от группы контрольных животных ($P \leq 0,05$)					

Это свидетельствует о защитном эффекте ПЛАДК от повреждения клеток лизосомальными ферментами. Также установлено, что ПЛАДК значительно повышает фагоцитарную активность нейтрофилов периферической крови. ПЛАДК *Saccharomyces cerevisiae* увеличивает выживаемость и среднюю продолжительность жизни облученных животных, предотвращает раз-

витие метаболических нарушений (дефицита массы тела, снижения активности СДГ и ЛДГ), обусловленных воздействием общего γ -облучения в дозе 5,5 Гр.

ПЛАДК восстанавливает и стимулирует активность Т-клеточного звена иммунитета, активирует неспецифическую резистентность организма, предотвращает избыточную активизацию перекисных процессов в организме, обладает антиоксидантными свойствами.

Оценка защитного эффекта продукта лазерной активации дрожжевой культуры *Sacharomyces cerevisiae* при хронической интоксикации циклофосфаном показала, что ПЛАДК в 1,52–1,74 раза повышает выживаемость ($P < 0,05$) отравленных мышей (табл. 33).

Таблица 33. Влияние ПЛАДК на выживаемость мышей при хронической интоксикации циклофосфаном (внутрибрюшинно 10 мг/кг, ежедневно в течение 20 сут)

Группа мышей	Кол-во мышей	Кол-во выживших	Выживаемость, %	Коэффициент Калусинера
1-я	30	24	80*	0,92
2-я	30	21	70*	0,83
3-я	30	16	53	0,74
4-я	30	14	46	0,69
5-я	30	30	100	1

Примечания: * – различия достоверны в сравнении с контрольной группой ($P < 0,05$); 1-я группа животных получала патеризированный ПЛАДК; 2-я – непастеризированный ПЛАДК; 3-я – пастеризированную неактивированную дрожжевую культуру; 4-я (контрольная) – воду; 5-я – интактные животные.

Анализ изменений активности СДГ показал, что интоксикация циклофосфаном приводит к подавлению аэробных механизмов обеспечения структурно-функциональной целостности клеток крови. ПЛАДК предотвращает развитие этих изменений. Этот эффект выявлен через две недели после начала эксперимента (табл 34).

Анализ изменений активности ЛДГ показал, что ПЛАДК стимулирует анаэробные процессы энергообеспечения лейкоцитов с третьей недели после начала интоксикации циклофосфаном (таблица 35).

Таблица 34 Влияние ПЛАДК на активность СДГ в лейкоцитах у мышей при хронической интоксикации циклофосфаном (внутрибрюшинно 10 мг/кг, ежедневно в течение 20 сут)

Время исследования, сут.	Группы животных				
	1-я	2-я	3-я	4-я	5-я
7	6,21±0,10	6,12±0,15	6,30±0,18	6,00±0,11	6,51±0,08*
14	5,98±0,07	6,44±0,08*	5,49±0,08	5,83±0,07	6,53±0,07*
21	5,91±0,09*	5,84 ±0,10*	5,20±0,09	5,02±0,12	6,52±0,10*
28	5,98±0,11	5,89±0,06*	5,62±0,09	5,33±0,13	6,49±0,10*
35	6,28±0,12*	6,09±0,13*	5,48±0,06	5,41±0,07	6,55±0,11*
42	6,65±0,06*	6,33±0,09*	5,53±0,05	5,40±0,09	6,58±0,09*
49	6,39±0,07*	6,19±0,06*	5,35±0,06	5,38±0,05	6,54±0,08*
56	6,28±0,07*	6,29 ±0,12*	5,21±0,13	5,44±0,09	6,55±0,09*

Примечание:* – достоверные отличия от группы контрольных животных (P≤0,05)

Таблица 35. Влияние ПЛАДК на активность ЛДГ у мышей при хронической интоксикации циклофосфаном (внутрибрюшинно 10 мг/кг, ежедневно в течение 20 сут)

Время исследования, сут	Группы животных				
	1-я	2-я	3-я	4-я	5-я
7	5,24±0,06	5,12±0,06	5,50±0,10	5,40±0,09	5,56±0,09
14	5,65±0,08*	5,42±0,08*	4,85±0,07	4,72±0,04	5,77±0,06*
21	5,86±0,09*	5,84 ±0,10*	5,15±0,04	5,22±0,04	5,61±0,07*
28	6,09±0,08*	6,24±0,09*	5,22±0,05	5,08±0,07	5,84±0,09
35	6,17±0,07*	6,07±0,08*	5,08±0,06	5,10±0,02	5,88±0,08*
42	5,80±0,08*	5,84±0,07*	4,98±0,05	4,88±0,03	5,73±0,07*
49	5,74±0,04*	5,66 ±0,06*	4,94±0,04	4,91±0,03	5,79±0,07*
56	5,79±0,04*	5,71 ±0,05*	4,57±0,06	4,44±0,05	5,78±0,06*

Примечание:* – достоверные отличия от группы контрольных животных (P≤0,05)

В контрольной группе выявлено прогрессирующее развитие функциональной недостаточности клеточного звена иммунитета, начиная с третьей недели эксперимента (по данным РТМЛ с КоНА, ЛПС и Г-КСФ), табл 36-38.

Таблица 36. Влияние ПЛАДК на РТМЛ крови мышей с КоНА при хронической интоксикации циклофосфаном (внутрибрюшинно 10 мг/кг, ежедневно в течение 20 сут)

Время исследования, сут	Группы животных				
	1-я	2-я	3-я	4-я	5-я
7	94,5±13,0*	107,0±9,5*	99,9±7,1*	160,2±4,5	82,5±5,9*
14	42,1±8,2*	51,5±6,8*	75,2±5,7*	124,7±13,5	83,5±6,6*
21	46,1±3,8*	65,1±3,6*	113,5±8,2	113,1±3,3	85,6±1,9*
28	43,5±4,8*	51,5±3,9*	115,5±8,8	146,3±7,8	79,0±0,84*
35	58,9±5,9*	97,2±9,7*	154,5±9,1	161,3±8,2	87,0±2,4*
42	63,4±6,4*	98,5±10,2*	129,0±5,1	138,1±5,6	89,4±3,8*
49	143,2±12,2	126,2±7,7	133,4±5,5	131,5±5,7	78,1±4,4*
56	135,7±9,5	155,0±7,1	124,1±8,4	134,3±7,6	87,7±5,9*

Примечание:* – достоверные отличия от группы контрольных животных (P≤0,05)

Таблица 37. Влияние ПЛАДК на РТМЛ крови мышей с ЛПС при хронической интоксикации циклофосфаном (внутрибрюшинно 10 мг/кг, ежедневно в течение 20 сут)

Время исследования, сут	Группы животных				
	1-я	2-я	3-я	4-я	5-я
7	92,4±10,1*	85,1±6,2*	88,9±8,4	145,8±3,1	84,0±5,9*
14	70,5±4,7	61,8±6,5*	75,1±4,6	84,5±5,5	84,5±4,6
21	59,7±3,7*	65,5±3,3*	92,4±8,2	84,5±5,4	84,6±5,3
28	54,2±4,5*	57,7±4,2*	84,5±9,5*	128,1±10,9	83,5±7,7*
35	68,3±4,7*	82,6±5,5*	105,8±10,9	122,6±10,5	87,1±7,8*
42	83,5± 6,5*	102,2±12,5	122,0±11,0	130,3±11,2	84,4±8,5*
49	103,7±10,4	114,2±11,9	124,1±12,9	138,5±12,3	89,9±9,1*
56	112,5±11,6	131,3±12,5	129,5±12,5	140,8±12,8	87,8±8,6*

Примечание:* – достоверные отличия от группы контрольных животных (P≤0,05)

ПЛАДК предотвращал развитие недостаточности клеточного звена иммунитета и стимулировал секрецию цитокинов, повышающих функциональную активность Т-звена иммунитета с третьей недели интоксикации, с максимальной выраженностью на 5–6 неделе наблюдения (табл. 36–38).

Таблица 38. Влияние ПЛАДК на РТМЛ крови мышей с Г-КСФ при хронической интоксикации циклофосфаном (внутрибрюшинно 10 мг/кг, ежедневно в течение 20 сут)

Время исследования, сут	Группы животных				
	1-я	2-я	3-я	4-я	5-я
7	171,3±14,9*	115,8±12,9	114,0±12,4	146,1±13,8	119,1±11,5
14	80,4±4,2	128,4±4,0	112,2±5,0	121,5±10,9	127,3±11,9
21	67,5±5,2*	79,2±5,9*	108,3±9,9	113,2±11,2	110,5±10,9
28	73,6±8,5*	74,9,6±6,7*	120,1±10,8	144,0±12,3	112,2±11,4
35	129,3±12,7*	142,6±12,3*	208,7±12,9	213,4±13,5	122,8±11,9*
42	123,4±12,9*	138,3±12,7*	194,0±12,2	237,8±14,2	144,3±12,7*
49	121,1±12,4*	131,4±12,5*	189,8±14,5	209,5±13,9	150,0±13,5*
56	105,5±12,7*	119,3±12,4*	159,5±16,5*	201,1±13,7	148,7±14,1*

Примечание:* – достоверные отличия от группы контрольных животных (P≤0,05)

Хроническая интоксикация циклофосфаном приводит к активации образования перекисных соединений в лейкоцитах, ПЛАДК предупреждает активизацию перекисных процессов у мышей – (по данным НСТ-теста, табл. 39). Выявлено снижение показателей ЛКТ-теста после второй недели эксперимента в группе животных, получавших ПЛАДК (табл. 40). Это свидетельствует о его защите от повреждения клеток лизосомальными ферментами при интоксикации циклофосфаном.

Таблица 39. Влияние ПЛАДК на показатели НСТ-теста у мышей при хронической интоксикации циклофосфаном (внутрибрюшинно 10 мг/кг, ежедневно в течение 20 сут)

Время исследования, сут	Группы животных				
	1-я	2-я	3-я	4-я	5-я
7	0,16±0,03	0,18±0,04	0,19±0,03	0,21±0,03	0,11±0,003*
14	0,19±0,04	0,21±0,03	0,28±0,04	0,26±0,03	0,13±0,003*
21	0,24±0,03*	0,23±0,04*	0,37±0,05	0,32±0,04	0,14±0,004*
28	0,22±0,04*	0,25±0,04*	0,39±0,05	0,35±0,04	0,12±0,003*
35	0,26±0,05*	0,24±0,03*	0,33±0,04	0,40±0,04	0,15±0,004*
42	0,23±0,03*	0,27±0,04	0,29±0,05	0,33±0,04	0,17±0,004*
49	0,24±0,04	0,20±0,03	0,19±0,04	0,17±0,03	0,12±0,005
56	0,19±0,04	0,18±0,04	0,20±0,03	0,09±0,04	0,14±0,005

Примечание:* – достоверные отличия от группы контрольных животных (P≤0,05)

Таблица 40. Влияние ПЛАДК на показатели ЛКТ-теста у мышей при хронической интоксикации циклофосфаном (внутрибрюшинно 10 мг/кг, ежедневно в течение 20 сут)

Время исследования, сут.	Группы животных				
	1-я	2-я	3-я	4-я	5-я
7	1,26±0,04	1,28±0,03	1,34±0,06	1,37±0,07	1,23±0,04*
14	1,28±0,02*	1,31±0,04	1,38±0,05	1,40±0,04	1,25±0,03*
21	1,31±0,04*	1,28±0,05*	1,41±0,06	1,53±0,08	1,24±0,05*
28	1,29±0,05*	1,25±0,04*	1,50±0,03	1,49±0,04	1,26±0,05*
35	1,32±0,04*	1,29±0,03*	1,13±0,04*	1,46±0,03	1,22±0,04*
42	1,23±0,03*	1,21±0,06*	1,10±0,09*	1,44±0,04	1,21±0,04*
49	1,24±0,04	1,20±0,05	1,17±0,09	1,29±0,03	1,24±0,05
56	1,25±0,06	1,27±0,05	1,08±0,11	1,23±0,03	1,27±0,06

Примечание:* – достоверные отличия от группы контрольных животных ($P \leq 0,05$)

Также установлено, что ПЛАДК достоверно ($P < 0,05$) повышал фагоцитарную активность нейтрофилов периферической крови, нарушенную при хронической интоксикации циклофосфаном.

ПЛАДК *Saccharomyces cerevisiae* увеличивал выживаемость животных, предотвращал развитие метаболических нарушений (дефицита массы тела, снижение активности СДГ и ЛДГ), при хронической интоксикации циклофосфаном (10 мг/кг ежедневно в течение 20 сут), восстанавливал и стимулировал активность Т-клеточного звена иммунитета.

Механизм защитного эффекта ПЛАДК связан с тем, что облучение CO₂-лазером дрожжевой культуры *Saccharomyces cerevisiae* (0,5–1,0 кВт/см²) вызывает секрецию в культуральную среду защитных белков стресса и повышение уровня БТШ70 более чем в 5 раз.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности применения продуктов лазерной активации клеточных культур для защиты организма человека от радиационных воздействий, токсических веществ и биопатогенов. Это послужило основой концепции стресс-ксенобиотерапии – активации ксеногенных по отношению к защищаемому организмов импульсными воздействиями физических факторов высокой интенсивности, которые вызы-

вают их обратимое повреждение. В этом случае клетки переключаются на синтез и секрецию факторов защиты. Продукты активации ксеногенных по отношению к человеку организмов протезируют нарушенные механизмы защиты при поражениях, вызываемых экстремальными воздействиями.

3.7. Защита от геморрагического шока, травматического токсикоза , повышение устойчивости к интенсивным истощающим физическим нагрузкам и глубоководным погружениям

Установлено, что БТШ70 и его производные пролонгированного действия повышали выживаемость крыс при острой массивной кровопотере (ОМК) и травматическом токсикозе.

БТШ70, БТШ70-PEG и БТШ70-Fc достоверно повышали выживаемость при ОМК, до 55 %, 80 % и 90 %, соответственно, что в 3,9–6,5 раз превышало показатели группы контроля (15%). При травматическом токсикозе БТШ70, БТШ70-PEG и БТШ70-Fc достоверно повышали выживаемость крыс до 50 % (8/20), 65% (13/20) и 90 % (18/20), соответственно, что в 2,5–4,5 раза превышало показатели группы контроля (20 % - 4/20)

БТШ70 и их производные препятствовали развитию системной иммунной воспалительной реакции при ОМК и травматическом токсикозе, снижали соотношение провоспалительных и противовоспалительных цитокинов ИЛ-6/ИЛ-10 (табл. 41,42).

Это препятствует развитию поражений органов-мишеней, подавляет системную иммунную воспалительную реакцию, которая развивается при ОМК и длительном сдавливании мягких тканей.

Повышение активности АлТ, АсТ, КФК и креатинина свидетельствует о том, что ОМК вызывает поражения сердца, печени и почек, снижение их активности при применении БТШ70 и их производных подтверждает, что эти препараты защищают органы-мишени от вызываемых ОМК поражений. Наиболее выражен был защитный эффект БТШ70-Fc (табл.42).

Таблица 41. Защитное действие БТШ70 через 24 ч после острой массивной кровопотери у крыс, М±m

Параметры	Группы животных				
	БТШ70	БТШ70-ПЭГ	БТШ70-Fc	Контроль	Интактные
Выживаемость	55% *	80% *	90% *	15%	100%
ИЛ-6, пг/мл	438± 55 *	406± 55*	359± 44*	2230±264	37±2
ИЛ-10, пг/мл	183± 408 *	226± 37*	254±408*	28± 7	7± 1
ИЛ-6 / ИЛ-10	2,4 *	1,8*	1,4*	77,0	5,1
Креатинин, мкмоль/л	145± 5 *	129±5*	108± 5*	170±6	75±5
АлТ, Ед/л	440±50 *	413±49*	396±46*	1019±179	47± 2
АсТ, Ед/л	470±45 *	415± 47*	347± 46*	1149±166	65± 3
КФК, Ед/л	758±67 *	633± 58*	514±50*	8681±213	100±6

Примечание: * - $P \leq 0,05$ по сравнению с контролем

Маркерами рабдомиолиза являются повышение уровня калия, активности КФК, ЛДГ, АсТ; поражений почек –повышение креатинина и мочевины; поражения печени при травматическом токсикозе – повышение уровня АлТ и АсТ. Полученные результаты свидетельствуют о том, что БТШ70 и его производные защищают органы-мишени от поражений, препятствуют развитию рабдомиолиза, почечной и печеночной недостаточности при травматическом токсикозе. Защитный эффект БТШ70-ПЭГ и БТШ70-Fc был достоверно более выражен в сравнении с БТШ70 (табл. 42).

Таблица 42. Защитное действие БТШ70 при длительном сдавливании мягких тканей бедра у крыс, М±m

Параметры	Группы животных				
	БТШ70	БТШ70-ПЭГ	БТШ70-Fc	Контроль	Интактные
Выживаемость, %	50 *	65*	90 *	20	100
ИЛ-6, пг/мл	1238±54*	965±105*	859± 43*	3245 ± 387*	67±4
ИЛ-10, пг/мл	283±41*	327±57*	456±80*	108±14*	21±2
ИЛ-6/ИЛ-10	5,33*	2,97*	1,89*	30,04**	5,14
Азот мочевины, г/л	43,5±5,2*	39,2±5,6*	31,5±5,7*	59,7±7,4*	13,7±2,2
Калий, ммоль/л	5,44±0,31*	5,73±0,29*	5,21±0,52*	7,12±0,33*	4,25±0,23
Креатинин, г/л	0,84±0,09*	0,75±0,09*	0,59±0,11*	1,28±0,30*	0,32±0,04
АлТ, Ед/л	1939±155*	1512±109*	1295±195*	4538±295*	76±9
АсТ, Ед/л	654±39*	516±66*	486±75*	720±165*	64±7
КФК, Ед/л	8758±766*	6632±849 *	5214±747*	14620±972*	258 ±65
ЛДГ, Ед/л	3851 ±738*	3118 ±710*	2830 ±658*	5989 ±695*	210 ±9

Примечание: * - различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ по сравнению с контролем

Результаты экспериментов свидетельствуют о том, что БТШ70 значительно повышал продолжительность жизни при геморрагическом шоке (в 3,4–5,1 раза). Защитный эффект у препаратов БТШ70 пролонгированного действия (БТШ70-ПЭГ и БТШ70-Fc) более выражен в сравнении с немодифицированным рекомбинантным БТШ70 (табл.43).

Таблица 43. Влияние БТШ70, БТШ70-ПЭГ, БТШ70-Fc на продолжительность жизни при геморрагическом шоке у крыс $M \pm m$

Показатели	Группы животных			
	БТШ70	БТШ70-ПЭГ	БТШ70-Fc	Контроль
Продолжительность жизни, мин	235±45*	278±49*	348±35*	69± 9

Примечание: * - различия статистически значимы при $p \leq 0,05$ по сравнению с контролем

Установлено, что экстремальные физические нагрузки снижают более чем на 60 % показатели физической работоспособности через 5–10 сут после начала эксперимента, а также значительно повышают уровень КФК, ЛДГ, ИЛ6, ИЛ10 в крови крыс. Это свидетельствует о развитии повреждений клеточных мембран миоцитов при чрезмерных физических нагрузках и указывает на роль провоспалительных цитокинов в их патогенезе.

У рекомбинантного БТШ70 выявлены свойства актопротектора. Он способен не только предотвращать снижение работоспособности при экстремальных истощающих физических нагрузках, но и повышать ее почти в 2 раза в сравнении с исходными показателями. Его эффект имеет дозозависимый характер (табл. 44, 45). Актопротекторные свойства у конъюгата БТШ70 с полиэтиленгликолем (БТШ70-ПЭГ) значительно более выражены в сравнении с немодифицированным БТШ70. Он может повысить работоспособность в 2,5 раза в сравнении с исходными показателями при экстремальных истощающих физических нагрузках у крыс (табл. 46, 47).

БТШ70-Fc предотвращает снижение показателей работоспособности при экстремальных физических нагрузках, а также может их повысить более чем в 3 раза (табл. 44-49). Его актопротекторная активность существенно выше чем у немодифицированного БТШ70 и БТШ70-ПЭГ, является дозозависимой (табл. 44-49).

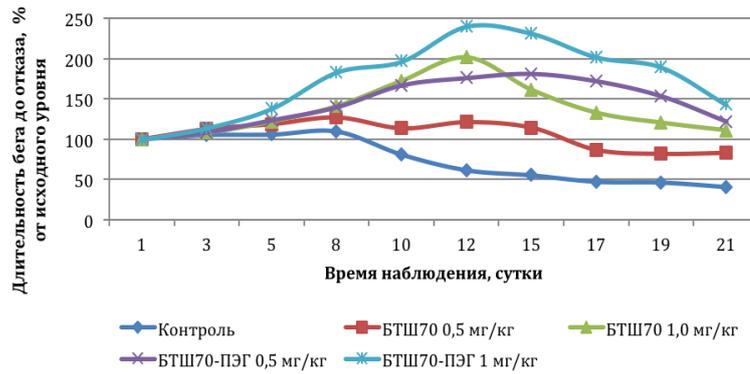


Рисунок 30. Сравнительный анализ влияния БТШ70 и БТШ70-ПЭГ на работоспособность крыс, тест длительность бега на тредбане «до отказа», нагрузки через день

Установлено, что БТШ70 и БТШ70-ПЭГ достоверно снижают в крови у крыс уровень КФК и ЛДГ (рис. 31, 32); концентрацию ИЛ6; уровень ИЛ10 остается повышенным. Они восстанавливают нарушенный баланс провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, препятствуют развитию повреждений мышц, повышают устойчивость к экстремальным физическим нагрузкам, обладают цитопротекторными свойствами и препятствуют развитию рабдомиолиза. Защитные свойства БТШ70-Fc сопоставимы с результатами, полученными при введении БТШ70-ПЭГ.

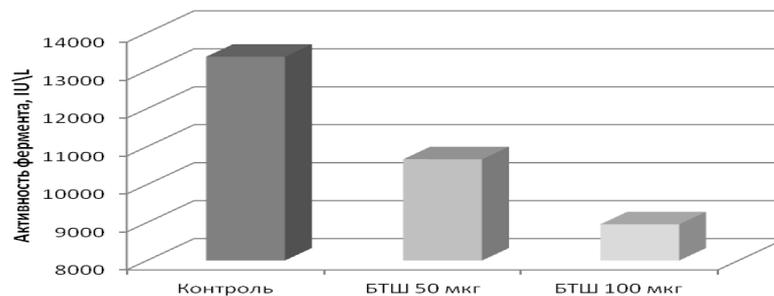


Рисунок 31. Активность креатинфосфокиназы в сыворотке крови крыс на 20 сутки эксперимента (тест «Бег до отказа» на тредбане)

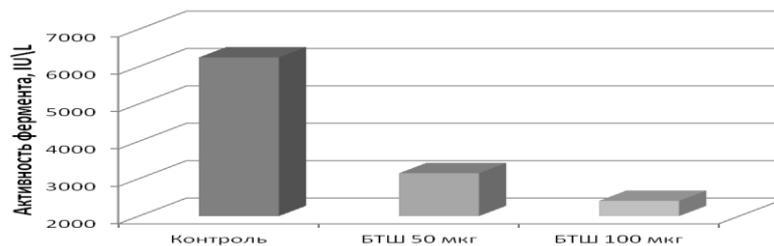


Рисунок 32. Активность лактатдегидрогеназы в сыворотке крови крыс на 20 сутки эксперимента (тест «Бег до отказа» на тредбане)

Морфологический анализ выявил в бедренных мышцах крыс группы контроля признаки дистрофии, рабдомиолиза и асептического воспаления.

К специфическим структурно-функциональным проявлениям действия БТШ70 на состояние мышечной ткани у крыс можно отнести признаки активации ангиогенеза, лимфокапиллярной системы и присутствия в лимфатических капиллярах большого количества светлых, с огромной цитоплазмой, но маленьким ядром, клеток — широкоцитоплазменных активированных лейкоцитов. Эти изменения наиболее выражены у животных, получавших БТШ70-ПЭГ.

Препараты на основе БТШ70, способствуют восстановлению структурно-функциональной целостности мышц после экстремальных истощающих физических нагрузок. Механизмами репаративного действия препаратов БТШ70 могут быть феномены, связанные с согласованной активацией реакций ангио-, лимфо- и миогенеза.

Активация ангиогенеза у крыс, получавших БТШ70 была наиболее выражена у животных получавших БТШ70-Fc, рис. 50.

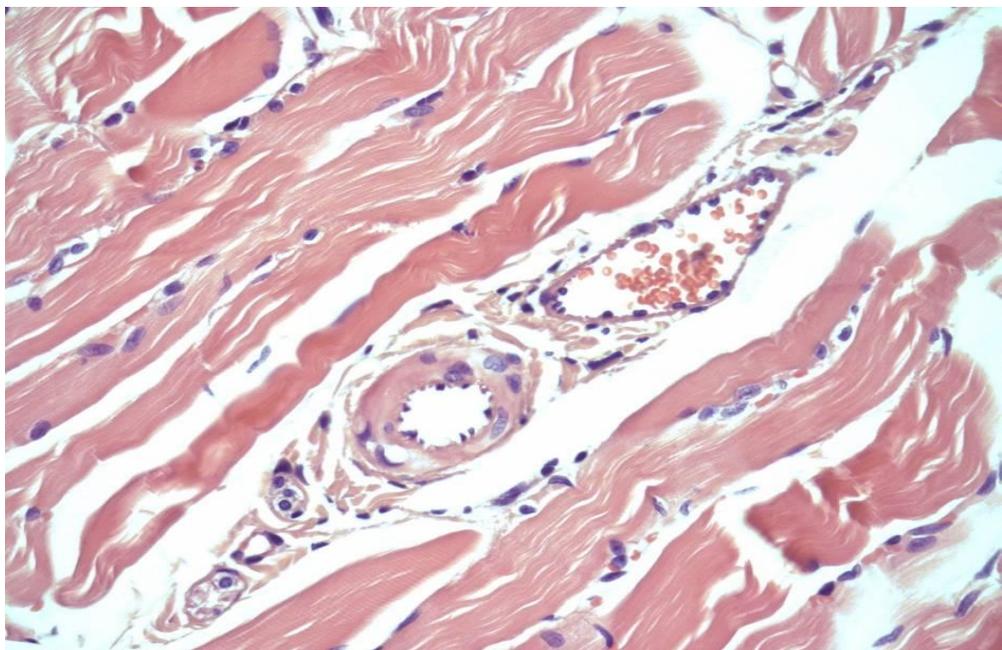


Рисунок 33. Мышцы бедра крысы из группы с введением рекомбинантного БТШ70. Окраска гематоксилин-эозином $\times 400$. На фоне признаков разволокнения мышц и мышечной дистрофии видны зоны активации неоангиогенеза.

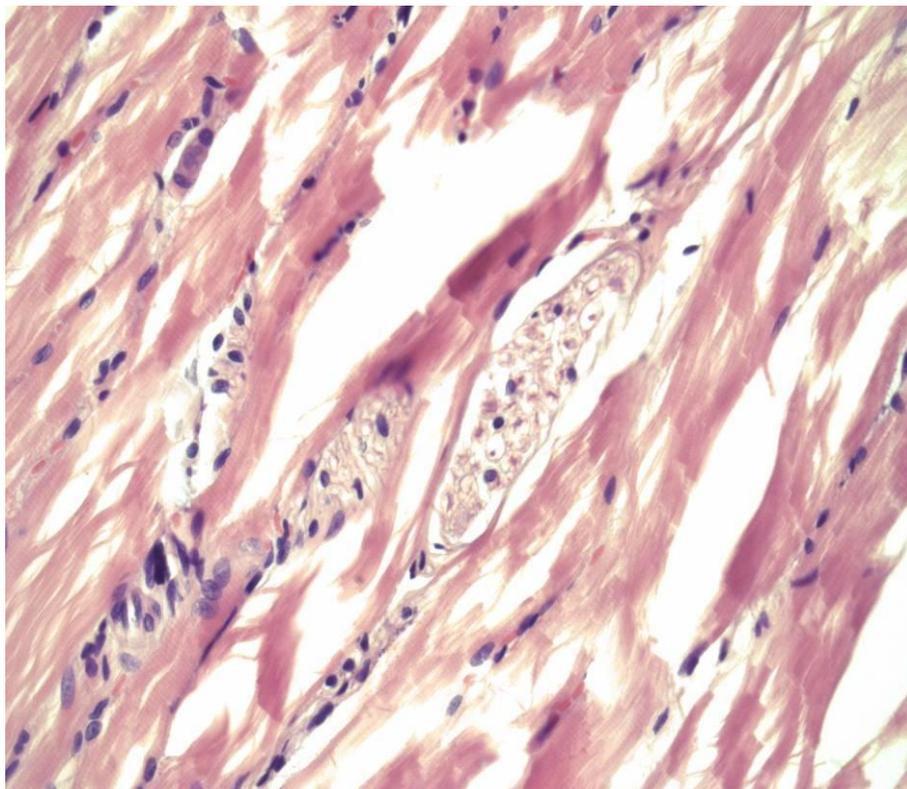


Рисунок 34. Мышца бедра крысы из группы с введением БТШ70-ПЭГ. Окраска гематоксилин – эозином $\times 400$. Участок мышцы, где на фоне повреждения и разволокнения виден удельный рост содержания лимфокапилляров, переполненных реактивными, широкоцитоплазмными («большими») лимфоцитами

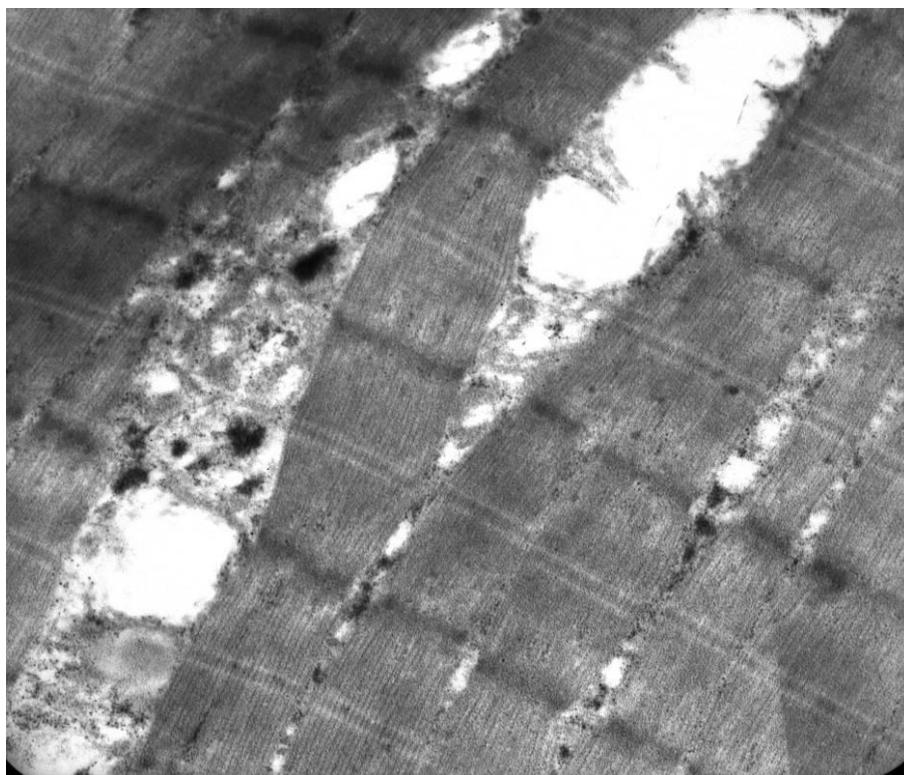


Рисунок 35. Электронная микроскопия биоптата мышцы бедра крысы, контрольная группа. $\times 15000$. Признаки повреждения митохондрий, деструкции мышечных органелл с образованием вакуолей, дезагрегация миофиламентов.

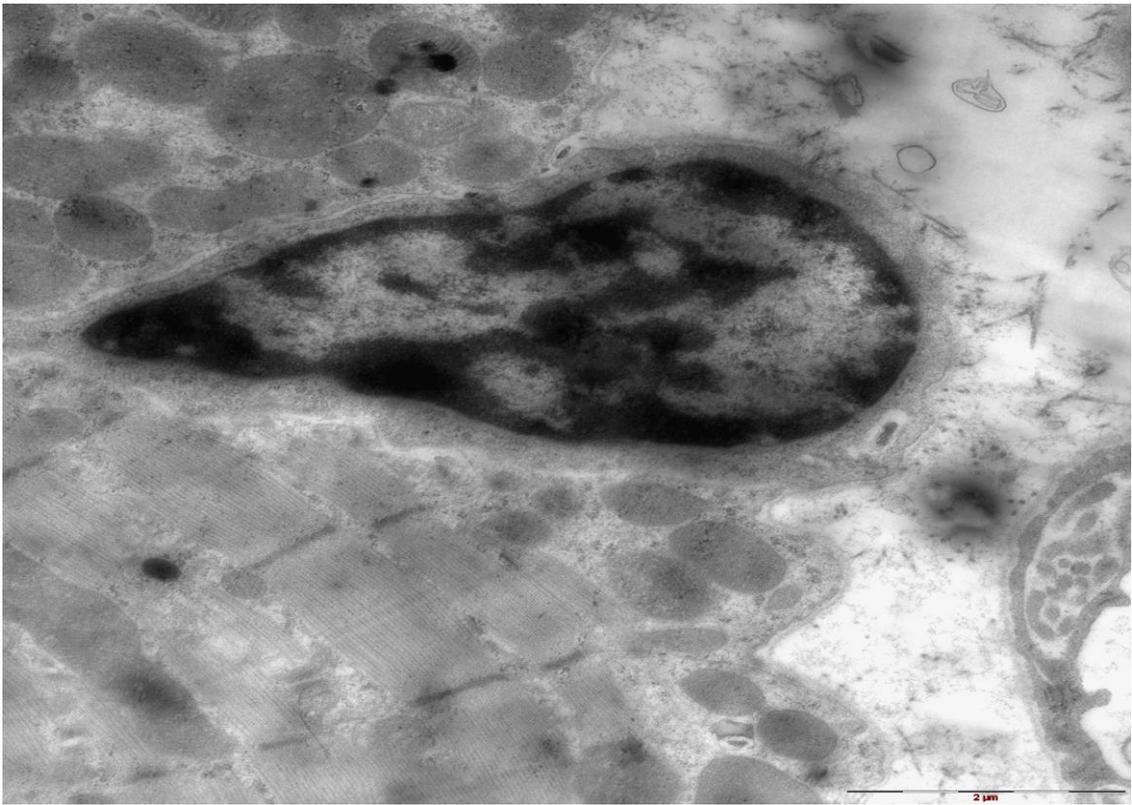


Рисунок 36. Электронная микроскопия биоптата мышцы бедра крысы. Контрольная группа X 15 000. Явления активации ядер, увеличения числа митохондрий. На этом фоне разрежения волокон и их отека (проявления рабдомиолиза).

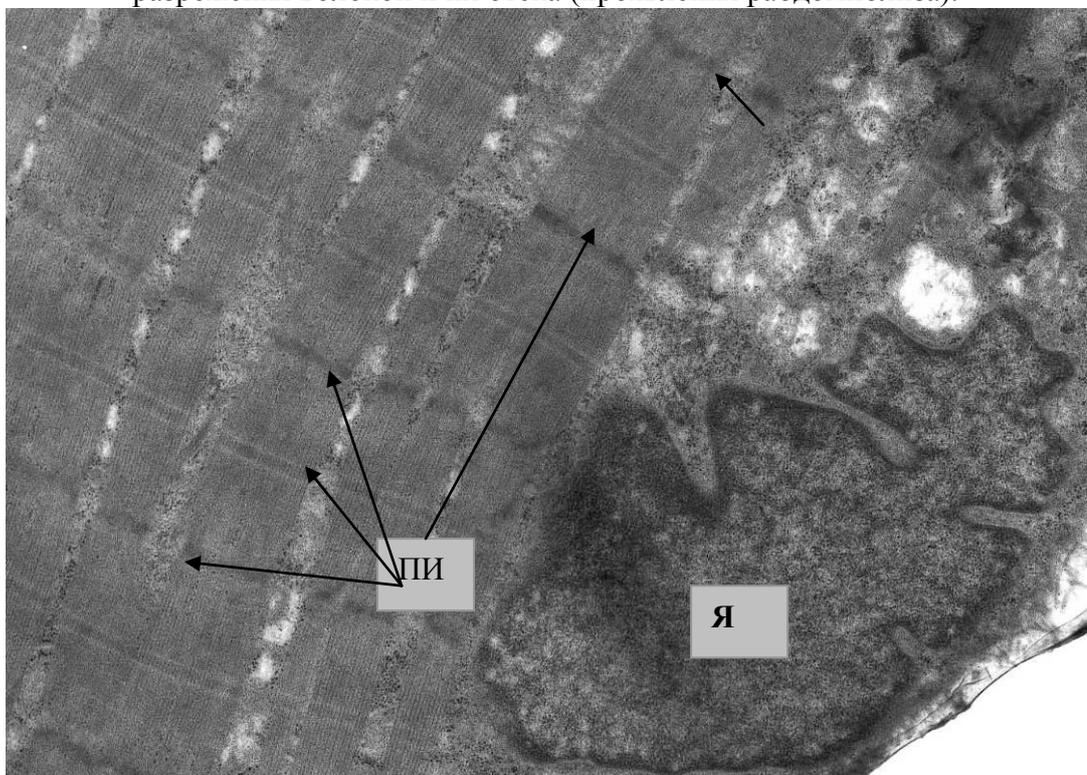


Рисунок 37..Электронная микроскопия биоптата мышцы бедра крысы. Группа с введением БТШ70-Fc, X-15000. Хорошо структурированная поперечная исчерченность (ПИ) мышцы. Активно работающее ядро клетки мышечной клетки (Я).

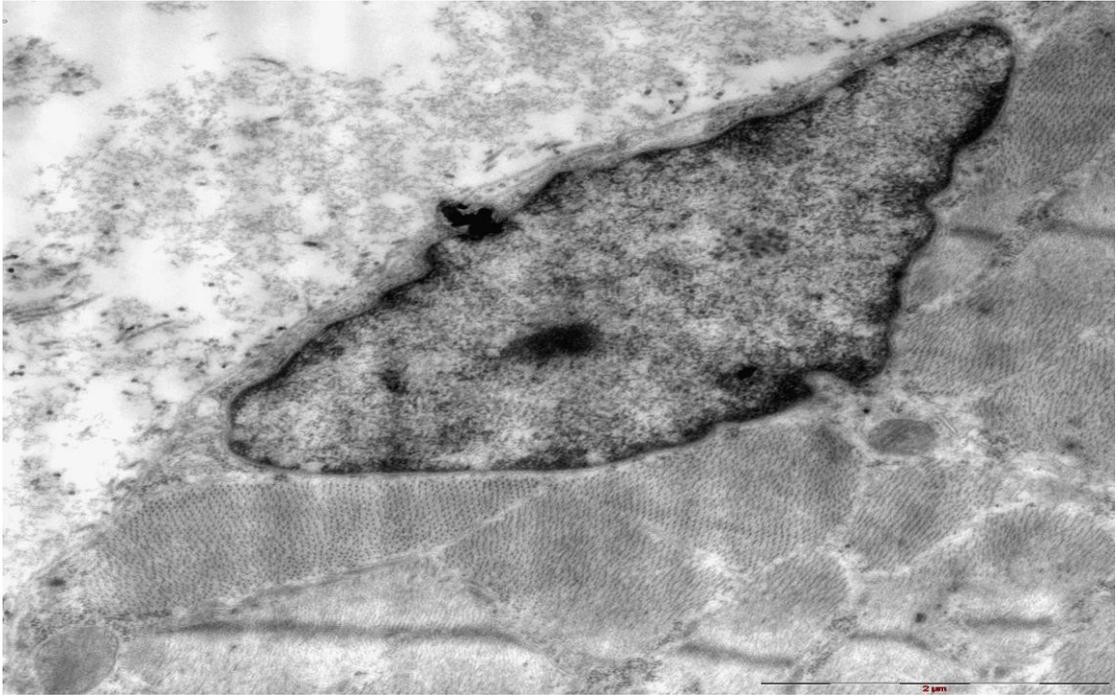


Рисунок 38. Электронная микоскопия мышцы. X 15 000. Активированная сателлитная клетка в группе с введением БТШ70. Хорошо видно крупное, богатое эухроматином ядро клетки.

Таблица 44 – Влияние БТШ70 на работоспособность крыс, тест длительность бега на тредбане «до отказа», нагрузки через день

А	В	Группы животных/Длительность бега до отказа, % от исходных показателей									
		Контроль	Доза БТШ70, мг/кг								
			0,005	0,05	0,125	0,25	0,5	0,75	1,0	1,125	1,25
1	1	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
2	3	105,6±5,9	103,4±6,3	109,3±7,1	104,2±10,6	108,6±4,8	110,0±4,0	101,5±8,7	108,3±9,5	106,3±8,7	104,3±8,7
3	5	106,2±3,0	110,8±5,2	112,4±6,9	112,6±8,6	115,1±5,9	119,0±4,8*	117,3±9,8	122,3±11,2	117,4±8,2	113,4±8,2
4	7	109,9±4,2	110,7±6,7	118,0±7,5	116,7±11,2	124,1±5,1*	127,3±5,2*	136,3±8,6*	141,4±10,0*	130,3±7,8*	121,3±7,8*
5	9	81,2±3,7	98,3±7,2	105,4±6,4	106,3±7,3	111,7±3,5*	131,9±3,4*	147,2±7,2*	189,5±10,8*	158,4±8,9*	136,4±8,3*
6	11	61,9±4,4	81,2±6,0*	88,7±7,6*	90,8±9,5*	104,2±5,9	121,5±5,3*	169,4±10,2*	172,8±12,4*	189,2±10,7*	164,1±8,6*
7	13	55,6±4,9	68,7±5,8	83,7±5,8*	88,6±8,7*	97,3±3,0*	114,6±4,6*	138,7±7,9*#	161,4±9,3*#	152,7±9,7*#	136,2±7,8*#
8	15	47,7±4,0	60,2±5,2	71,2±5,2*	74,3±9,2*	81,2±3,3*	97,0±4,0*	122,3±10,3*	133,1±7,5*	121,0±10,3*	112,4±8,9*#
9	17	46,7±3,1	52,6±3,7	62,4±5,8*	59,7±8,8	70,1±4,1*	88,3±3,8*	112,1±6,4*	120,8±8,9*	108,5±8,6*	91,3±6,5*
10	19	41,2±5,3	45,4±4,5	50,5±4,7	52,1±7,3	67,6±9,7*	82,4±8,6*	106,5±9,2*	111,3±9,7*	93,9±9,2*	75,6±7,3*

Примечания: А- число нагрузок «бег до отказ»; В- срок наблюдения, сут; * - статистически значимо (P<0,05) по сравнению с группой контроля;

Таблица 45 – Влияние БТШ70-ПЭГ на работоспособность крыс, тест длительность бега на тредбане «до отказа», нагрузки через день

А	В	Длительность бега до отказа, % от исходных показателей									
		Контроль	Доза БТШ70-ПЭГ, мг/кг								
			0,005	0,05	0,125	0,25	0,5	0,75	1,0	1,125	1,25
1	1	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
2	3	105,6±5,9	108,3±7,2	105,3±6,3	102,3±11,2	117,2±9,4	109,0±6,7	105,7±9,4	114,6±8,2	112,3±9,1	108,4±8,3
3	5	106,2±3,0	115,6±8,7	112,2±7,5	113,5±9,1	131,6±8,7*	124,0±7,2*	121,2±8,3	138,8±10,5*	118,5±7,6	112,7±8,2
4	7	109,9±4,2	118,7±6,1	115,3±7,0	122,4±9,5	139,4±10,2*	140,2±7,3*	162,1±11,4*	183,7±11,4*	153,0±9,4*	146,1±8,5*
5	9	81,2±3,7	103,5±5,0*	118,1±7,8*	130,7±8,8*	142,3±9,5*	167,2±10,1*	186,4±11,7*	197,2±10,6*	172,3±10,6*	158,4±9,7*
6	11	61,9±4,4	105,8±7,3*	120,8±8,4*	124,4±10,2*	132,3±9,4*	176,3±10,4*	202,5±10,7*	231,7±11,4*	198,7±10,2*	175,2±11,3*
7	13	55,6±4,9	106,4±7,9*	122,2±6,7*	134,3±9,6*	151,7±11,2*	181,4±11,2*	221,0±12,3*	240,5±13,2*	210,8±11,3*	199,3±10,2*
8	15	47,7±4,0	89,1±6,8*	115,3±5,8*	112,6±8,7*	136,7±10,8*	172,3±10,6*	210,8±11,2*	222,4±10,3*	198,4±11,7*	186,7±12,4*
9	17	46,7±3,1	70,6±5,3*	89,3±6,7*	93,2±7,9*	124,5±7,5*	153,7±9,5*	182,3±8,6*	189,7±9,6*	178,2±10,3*	162,3±11,5*
10	19	41,2±5,3	62,4±4,9	69,2±3,7*	75,6±8,3*	105,4±8,0*	131,3±11,8*	140,4±10,3*	148,3±10,4*	130,1±8,9*	118,2±7,4*

Примечания: * - А- число нагрузок «бег до отказ»; В- срок наблюдения, сут; статистически значимо (P<0,05) по сравнению с группой контроля

Таблица 46 – Влияние БТШ70-Fc на работоспособность крыс, тест длительность бега на тредбане «до отказа»,нагрузки через день

А	Б	Группы животных, Длительность бега до отказа, % от исходных показателей										
		Контроль	Доза БТШ70-Fc, мг/кг									
			0,005	0,05	0,125	0,25	0,5	0,75	1,0	1,125	1,25	
1	1	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
2	3	105,6 ±5,9	106,2±8,1	107,1±8,4	109,5±9,6	114,5±8,6	112,0±9,2	106,8±10,2	110,4±7,6	108,2±10,4	105,6±9,2	
3	5	106,2 ±3,0	110,0±7,9	109,8±9,1	112,6±8,9	122,5±10,4*	123,1±8,1*	125,4±9,6	132,3±9,4*	121,2±9,5	120,5±10,3	
4	7	109,9±4,2	112,5±8,1	116,5±8,3	120,3±9,2	142,3±11,5*	151,5±10,7*	171,6±10,9*	197,2±10,5*	167,8±10,3*	143,2±11,4*	
5	9	81,2±3,7	115,2±7,1*	116,8±9,2*	133,3±9,5*	148,5±10,3*	181,3±11,7*	196,3±12,7*	223,7±11,6*	180,4±9,8*	159,9±10,5*	
6	11	61,9±4,4	116,2±6,9*	121,2±10,0*	139,6±11,4*	153,1±11,3*	224,0±12,2*	256,3±11,2*	278,2±14,1*	191,6±11,3*	181,7±12,0*	
7	13	55,6±4,9	120,4±7,9*	123,8±9,5*	142,2±10,7*	168,3±10,8*	232,4±13,9*	242,7±10,7*	294,2±15,0*	236,6±10,1*	196,2±10,9*	
8	15	47,7±4,0	110,1±6,8*	118,9±8,4*	138,5±9,3*	141,2±9,7*	217,5±11,7*	223,7±12,8*	241,6±12,8*	196,5±9,6*	190,2±10,2*	
9	17	46,7±3,1	89,3±7,2*	92,2±8,1*	122,2±8,5*	125,1±10,3*	193,5±12,0*	196,1±10,5*	203,5±10,6*	186,3±11,2*	158,1±10,8*	
10	19	41,2±5,3	76,1±6,4	79,0±7,5	98,4±9,2*	108,4±9,9*	164,3±10,5*	172,3±11,8*	186,4±11,8*	137,1±8,9*	120,3±9,3*	
		Примечания: А- число нагрузок «бег до отказа» ; В- срок наблюдения, сут; * - статистически значимо (P<0,05) по сравнению с группой контроля										

Таблица 47 – Влияние БТШ70 на работоспособность крыс, тест длительность бега на тредбане «до отказа», ежедневные нагрузки

Время наблюдения, сут	Группы животных/Длительность бега до отказа, % от исходных показателей											
	Контроль	Доза БТШ70, мг/кг										
		0,005	0,05	0,125	0,25	0,5	0,75	1,0	1,125	1,25		
1	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	
2	105,9±8,6	106,5±7,4	103,8±9,2	107,0±9,5	105,2±9,1	108,6±8,3	104,6±9,2	105,8±10,3	104,5±9,3	107,5±9,5		
3	110,6±7,2	108,7±8,1	107,6±8,7	109,7±10,5	103,4±7,3	113,8±9,4	116,7±8,7	112,6±9,7	110,6±7,8	106,1±9,3		
4	107,3±6,9	110,5±7,5	108,5±9,0	111,7±9,3	119,5±8,2	120,5±8,4	128,2±9,4	136,2±11,3*	118,6±9,7	111,9±8,7*		
5	102,5±9,1	104,2±9,3	110,6±8,4	113,4±8,7	113,1±10,4	130,2±9,6	133,8±8,5*	153,6±10,3*	128,6±9,5	122,3±9,2*		
6	86,9±5,3	106,6±8,4	118,7±9,8*	113,1±9,8*	116,7±9,6*	120,3±8,1*	138,3±11,4*	166,4±11,5*	136,6±8,6*	132,5±9,64*		
7	56,1±4,2	105,3±8,6*	116,2±10,1*	116,2±9,3*	124,3±8,6*	128,7±9,2*	142,4±8,3*	171,5±8,6*	152,8±8,4*	145,6±8,7*		
8	68,7±5,4	96,8±9,3*	107,2±8,3*	114,8±8,6*	119,9±9,5*	121,3±8,7*	134,6±9,6*	158,4±9,3*	132,4±11,5*	128,3±9,2*		
9	60,2±4,3	82,6±7,8*	92,4±7,5*	94,6±9,2*	107,8±8,7*	112,3±7,9*	121,6±8,2*	126,7±7,7*	121,4±9,2*	119,5±8,8*		
10	54,8±4,4	76,9±7,2*	80,3±6,3*	92,3±6,8*	104,8±10,6*	106,3±9,3*	105,3±9,7*	110,0±8,6*	108,7±8,4*	101,5±8,2*		
		Примечания: * - статистически значимо (P<0,05) по сравнению с группой контроля										

Таблица 48 – Влияние БТШ70-ПЭГ на работоспособность крыс, тест длительности бега на тредбане «до отказа», ежедневные нагрузки

А	Длительность бега до отказа, % от исходных показателей									
	Контроль	Доза БТШ70-ПЭГ, мг/кг								
		0,005	0,05	0,125	0,25	0,5	0,75	1,0	1,125	1,25
1	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
2	105,9±8,6	106,2±9,5	105,8±9,1	104,3±8,7	103,3±8,8	107,2±9,4	106,5±10,6	108,2±9,3	107,2±8,2	105,3±9,6
3	110,6±7,2	107,7±9,6	108,3±7,6	107,2±8,6	105,6±9,2	114,3±8,3	108,6±9,4	112,3±11,2	108,4±9,5	107,6±10,1
4	107,3±6,9	109,6±7,2	111,2±9,2	112,4±7,6	110,2±9,8	122,3±10,2	128,8±10,1	138,7±9,8*	130,3±10,5	127,6±9,3
5	102,5±9,1	107,3±8,5	112,4±8,2	114,7±9,4	115,2±8,7	126,7±8,7	131,5±10,6	142,6±8,8*	138,5±9,8*	135,3±10,3*
6	86,9±5,3	93,6±8,4	115,8±9,5*	117,2±9,5*	117,8±9,8*	129,6±11,5*	145,6±9,8*	149,6±10,3*	141,4±8,7*	140,4±10,6*
7	56,1±4,2	94,6±8,2*	118,2±8,6*	119,5±8,5*	121,6±10,2*	131,6±9,8*	148,2±10,6*	156,3±11,0*	149,6±10,4*	144,2±9,7*
8	68,7±5,4	97,3±8,7*	119,4±8,1*	120,3±9,7*	123,7±8,7*	134,7±9,3*	156,3±10,1*	158,2±9,2*	152,3±9,3*	148,6±10,8*
9	60,2±4,3	90,4±7,6*	122,8±7,8*	123,8±8,3*	125,8±9,6*	138,3±8,4*	162,3±9,4*	164,9±10,1*	156,1±11,2*	150,4±12,2*
10	54,8±4,4	88,5±9,1*	120,3±8,3*	120,4±9,2*	124,6±9,3*	133,4±10,9*	149,3±11,6*	152,5±9,9*	141,3±10,4*	138,7±9,5*

Примечания: А- время наблюдения, сут; * - статистически значимо (P<0,05) по сравнению с группой контроля

Таблица 49 – Влияние БТШ70-Fc на физическую работоспособность крыс, тест длительность бега на тредбане «до отказа», ежедневные нагрузки

А	Длительность бега до отказа, % от исходных показателей									
	Контроль	Доза БТШ70-Fc, мг/кг								
		0,005	0,05	0,125	0,25	0,5	0,75	1,0	1,125	1,25
1	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
2	105,9±8,6	108,3±10,2	107,6±8,8	106,6±9,3	105,7±9,6	110,1±8,7	109,2±9,4	110,4±10,2	108,3±9,7	107,2±10,5
3	110,6±7,2	110,6±11,1	109,6±9,4	110,1±10,2	110,2±10,5	116,3±9,6	112,8±10,6	115,2±10,4	111,2±8,6	112,4±11,3
4	107,3±6,9	110,8±10,8	114,3±10,5	116,3±9,7	118,3±8,6	124,6±9,4	128,9±11,2	138,7±8,9*	131,4±11,4	129,3±10,2
5	102,5±9,1	112,4±9,7	117,6±10,4	119,5±10,6	120,5±9,3	134,4±10,2*	138,3±10,8*	148,8±11,5*	135,8±10,6*	130,6±10,4
6	86,9±5,3	114,5±9,3*	119,3±11,2*	123,3±8,9*	128,6±10,4*	141,2±10,3*	146,9±10,3*	156,8±11,9*	148,3±8,7*	145,2±9,6*
7	56,1±4,2	116,8±10,3*	122,3±10,7*	127,8±9,4*	136,9±11,5*	149,4±8,5*	150,2±11,2*	168,8±10,7*	154,3±9,6*	150,6±10,8*
8	68,7±5,4	118,6±9,5*	126,5±9,8*	130,6±10,2*	139,3±10,8*	152,6±10,2*	161,6±11,4*	172,3±11,6*	163,4±10,4*	154,8±9,6*
9	60,2±4,3	121,5±10,2*	129,9±10,5*	135,4±9,8*	146,6±8,8*	158,2±10,8*	164,7±10,3*	178,6±10,7*	164,3±12,0*	156,6±10,5*
10	54,8±4,4	118,4±8,7*	125,1±9,2*	132,1±10,3*	143,3±10,2*	152,6±9,7*	158,5±8,7*	173,4±10,6*	156,2±9,8*	149,6±10,1*

Примечания: А- время наблюдения, сут; * - статистически значимо (P<0,05) по сравнению с группой контроля;

Результаты морфометрии биоптатов свидетельствуют о том, что рекомбинантный БТШ70 дозозависимо увеличивает плотность капиллярной сети миоцитов (в 1,7–3,7 раз) по сравнению с показателями контрольной группы животных, а также повышает число сателлитных клеток мышц (в 6,8–7,9 раз). Применение БТШ70-ПЭГ приводит к увеличению плотности капиллярной сети в 1,9–3,8 раза, числа сателлитных стволовых клеток – в 7,1–8,6 раз, а БТШ70-Fc в 3,5–3,8 раз и 7,5–9,2 раз, соответственно (табл. 50)

Таблица 50. Влияние БТШ70, БТШ70-ПЭГ и БТШ70-Fc на плотность капиллярной сети и число сателлитных клеток в биоптатах мышцы бедра у крыс после завершения цикла экстремальных физических нагрузок («бег до отказа»), ежедневные нагрузки

Группы Животных	Доза, мг/кг	Параметры	
		Плотность капиллярной сети (число капилляров в мм ²)	Сателлитные клетки мышц (% от контроля)
Контроль		275,0±21,2	100
Метапрот	20	310,4±63,3	148,6±56,4*#
БТШ70	0,25	907,5±37,4*#	680,2±150,3*#
	05	990,3±27,4*#	723,4±145,4*#
	1,0	1005,4±38,4*#	791,5±138,3*#
	1,25	981,8±25,7*#	736,2±141,2*#
БТШ70-ПЭГ	0,25	951,2±41,3*#	706,1±132,5*#
	05	1020,6±39,8*#	840,1±170,4*#
	1,0	1042,8±39,7*#	863,2±152,4*#
	1,25	947,5±38,6*#	811,6±146,8*#
БТШ70-Fc	0,25	986,7±40,7*#	753,2±151,4*#
	05	1038,3±32,3*#	886,4±160,6*#
	1,0	1052,4±43,5*#	921,3±168,5*#
	1,25	990,3±42,8*#	823,4±130,4*#

Примечания: * - статистически значимо (P<0,05) по сравнению с группой контроля
- статистически значимо (P<0,05) по сравнению с группой метапрот

Полученные результаты свидетельствуют о том, что экзогенные рекомбинантные БТШ70, их производные пролонгированного действия (БТШ70-ПЭГ и БТШ70-Fc) являются актопротекторами.

Они повышают физическую работоспособность и выносливость, препятствует развитию рабдомиолиза при экстремальных истощающих физических нагрузках.

Молекулярные механизмы защитного эффекта экзогенных БТШ70 и их конъюгатов с полиэтиленгликолем включают увеличение плотности капиллярной сети, стабилизацию мембран миоцитов и мобилизацию сателлитных клеток мышц (табл. 50).

Установлена эффективность применения БТШ70 и его производных пролонгированного действия предотвращения развития декомпрессионной болезни (ДКБ) при барокамерной симуляции экстремальных глубоководных погружений. Патологические реакции, характерные для острой ДКБ в контрольной группе встречались в 73,3% случаев, в группе животных, получавших БТШ70 – в 45,6%. Введение производных БТШ70 пролонгированного действия (БТШ70-ПЭГ и БТШ70-Fc) снижало частоту возникновения обусловленных ДКБ патологических реакций в 2,5–3,4 раза (табл.51).

Таблица 51.Наличие симптомов ДКБ через 30 мин после изъятия крыс из барокамеры, %, (M±m)

Симптом		Группа животных			
		1	2	3	4
Судороги		30	15	10	75
Нарушение паттерна дыхания		40	25	15	85
Парез конечностей	Передних	15	5	5	60
	Задних	10	5	-	45
Неустойчивость передвижения		45	25	20	90

Выраженность клинических проявлений ДКБ в группах животных, получавших БТШ70 были достоверно менее выражены в сравнении с контрольной группой животных. При проведении исследований в пробе «ротарод» в группе животных, получавших БТШ70 установлено снижение макси-

мального уровня работоспособности на 10% в сравнении с интактными животными (в контрольной группе – на 40%).

БТШ70 снижал выраженность симптомов ДКБ. Препараты БТШ70 пролонгированного действия (БТШ70-ПЭГ и БТШ70-Fc) обладают более выраженными защитными свойствами в сравнении с немодифицированным рекомбинантным БТШ70 (табл. 52).

Таблица 52 Влияние БТШ70 на поведенческие реакции крыс через 1 сут после гипербарии, $M \pm m$

Показатель	Группа животных				
	1	2	3	4	5
Горизонтальный компонент двигательной активности	20,17±1,13*	2924±2,34*	31,24±2,34*	1,24±2,96	33,21±3,43
Вертикальный компонент двигательной активности	3,19±0,12*	3,27±0,46*	3,89±0,84*	0,46±0,05	4,01±0,68
«Норковый» рефлекс	2,87±0,32*	3,42±0,36*	3,60±0,18*	0,32±0,07	4,12±0,59
Умывания	2,16±0,34*	2,76±0,53*	2,89±0,71*	1,01±0,26	3,23±0,92
Болюсы	1,67±0,54	1,62±0,34	1,82±0,56	1,24±0,71	2,08±0,49
Примечание: * - различия по сравнению с контрольной группой, $p \leq 0,05$					

Полученные результатов свидетельствуют о том, что барокамерная симуляции экстремальных глубоководных погружений сопровождается повышением уровня БТШ70 в сыворотке крови в 3-11 раз. Отсутствие повышения уровня БТШ70 или его снижение в ответ на вышеуказанные экстремальные воздействие сопровождается развитием симптомов ДКБи является основанием для применения защитных белков стресса – БТШ70.

ГЛАВА 4. КОРРЕКЦИЯ ИММУННЫХ И МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ХИМИЧЕСКИХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ НА ОРГАНИЗМ ПОДОПЫТНЫХ ЖИВОТНЫХ И РАБОТНИКОВ НЕФТЕПЕРЕРАБАТЫВАЮЩЕГО ПРЕДПРИЯТИЯ

4.1. Коррекция иммунных и метаболических нарушений у подопытных животных

Для определения источников, качественного и количественного состава содержащихся в воде органических ксенобиотиков проводили анализ проб воды из р. Волхов и водопроводной воды в г. Кириши Ленинградской области. В речной воде выявлены производные фенола, ароматические и алифатические углеводороды. Хлорирование воды на водозаборной станции приводит к образованию токсичных электрофильных хлорпроизводных фенолов. Анализ содержания ксенобиотиков в водопроводной воде г. Кириши показал наличие хлорированных производных фенолов, бензола, бифенилов.

После кипячения воды уровень легких фракций уменьшался более чем в два раза, а содержание тяжелых фракций, наоборот, увеличивался более чем на 50%. Новые, более тяжелые соединения вероятно образуются из легких фракций.

Для изучения влияния длительного воздействия малых доз экотоксикантов на организм экспериментальных животных применяли сухой концентрат, который был получен из водопроводной воды в г. Кириши путем ее многократного вымораживания и лиофильной сушки.

Мыши получали с питьевой водой в течение 9 мес этот концентрат в дозе 0,5–60 мг/л. Выбор диапазона концентраций ксенобиотиков основан на реальном среднем содержании органических соединений в питьевой воде $11,8 \pm 2,4$ мг/л (6–15 мг/л в зависимости от времени года).

Установлено преимущественное депонирование экотоксикантов в сальнике, печени, селезенке и слизистой оболочке кишечника (табл.53).

Таблица 53 — Динамика накопления электрофильных ксенобиотиков (ЭК) в органах и тканях лабораторных животных в различные сроки после приема с питьевой водой эко-токсического фактора в дозе 30 мг/л в зависимости от контрольного уровня в процентах

Содержание ЭК нг/г «сырого веса»	90 сут	150 сутки	210 сут	270 сут
Кровь	0,4–37 нг/г (100%)	9–83 нг/г (100%)	23–175 нг/г (100%)	37–520 нг/г (100%)
Почки	170±12%	180±15%	195±18%	203±15%
Печень	270±34%	460±48%	638±67%	721±76%
Сальник	300±23%	330±41%	350±48%	340±52%
Селезенка	210±21%	190±18%	230±34%	250±65%
Кишка	180±54%	215±38%	248±27%	256±48%

Средняя продолжительность жизни мышей уменьшалась на 36,9±3,2% при концентрации ксенобиотиков в питьевой воде 60 мг/л.

В I фазе хронической интоксикации выявлена активация клеточного звена иммунного ответа (РТМЛ с Кона, ЛПС). Во II фазе интоксикации эти показатели, наоборот, снижались (табл.54).

Таблица 54 — Изменения показателей РТМЛ периферической крови у мышей при длительной интоксикации малыми дозами электрофильных ксенобиотиков

Показатели	Первая фаза интоксикации (90 сут)			
	Группа контроля	Концентрация ксенобиотиков, мг/л		
		15	30	60
РТМЛ с Кон А	92,6±5,8	67,1± 5,2*	63,1± 6,3*	46,7±5,9*
РТМЛ с ЛПС	88,4±7,8	64,2±6,7*	55,7±9,8*	41,5±1,8*
	Вторая фаза интоксикации (270 сут)			
РТМЛ с Кон А	96,5±7,9	122,4±11,4	143,7±10,8*	151,3±12,9*
РТМЛ с ЛПС	92,4±12,5	148,7±15,8*	167,4±17,2*	188,9±21,4*

Примечание: p<0,05 по сравнению с группой сравнения

Результаты исследования интенсивности «кислородного взрыва» в условиях хронической интоксикации ксенобиотиками показали, что в I фазе интоксикации повышаются показатели «кислородного взрыва» лейкоцитов в 1,3–2,8 раза, а во II фазе они, наоборот, снижались. Характер изменений ЛКТ и НСТ-тестов, ЛДГ и СДГ соответствовал динамике показателей «кислородного взрыва». В первой фазе интоксикации повышался уровень ЛДГ, СДГ, а-ГФДГ в лимфоцитах, а во второй фазе он, наоборот, снижался. Со-

держатся в питьевой воде ксенобиотики дозозависимо уменьшали продолжительность гексеналового сна в первой фазе интоксикации на 25-90%. Во второй фазе (240-270-е сут), наоборот, его продолжительность увеличивалась на 28%-86% ($P < 0,05$). Уменьшение продолжительности гексеналового сна указывает на активацию, а увеличение – на подавление активности ферментов антитоксического ответа (табл 55).

Таблица 55 — Изменения ферментативной активности лейкоцитов мышей, показатели «кислородного взрыва» (КВ), ЛКТ и НСТ, и показателей «гексеналового сна» в зависимости от концентрации ксенобиотиков в питьевой воде и фазы интоксикации $M \pm m$

Показатели	Первая фаза интоксикации (90 сут)			
	Контроль	Концентрация ксенобиотиков, мг/ л		
		15	30	60
КВ в лейкоцитах, усл. ед.	210±12	588±20*	658±18*	713±23*
ЛКТ	1,31±0,02	1,37±0,04	1,40±0,05*	1,53±0,04*
НСТ базальный	0,11±0,02	0,23±0,03*	0,31±0,05*	0,41±0,07*
НСТ стимул.	1,19±0,17	1,31±0,25	1,58±0,26	1,67±0,28
НСТ коэфф. Активации	10,81±0,3	5,72±0,22*	5,12±0,22*	4,11±0,20*
СДГ в лимфоцитах	13,43±0,35	17,24±0,50*	18,72±0,44*	22,48±0,57*
ЛДГ в лимфоцитах	12,35±0,31	15,27±0,42*	19,32±0,50*	26,58±0,54*
а-ГФДГ в лимфоцитах	10,24±0,64	14,71±0,69*	15,84±0,78	16,44±1,21*
Гексеналовый сон, мин	21,7±1,3	17,3±1,1*	14,8±2,1*	11,2±2,7*
Показатели	Вторая фаза интоксикации (270 сут)			
КВ в лейкоцитах, усл. Ед	247±26	612±24	542±31	328±44
ЛКТ	1,33±0,04	1,19±0,05*	1,10±0,06*	1,06±0,07*
НСТ базальный	0,13±0,02	0,28±0,03*	0,33±0,04*	0,37±0,03*
НСТ стимул.	1,16±0,15	1,18±0,19	1,23±0,26	0,67±0,28*
НСТ коэфф. Активации	8,92±0,13	4,21±0,15*	3,72±0,19*	1,87±0,25*
СДГ в лимфоцитах	13,56±0,40	12,31±0,56	11,72±0,67*	11,43±0,68*
ЛДГ в лимфоцитах	12,15±0,28	17,7±0,42*	10,3±0,50*	7,8±0,54*
а-ГФДГ в лимфоцитах	11,76±0,78	13,69±0,95	11,24±0,81	8,21±1,33*
Гексеналовый сон, мин	25,4±1,1	32,5±2,6*	40,5±2,6*	47,8±2,5*

Примечание: – $P < 0,05$ по сравнению с группой сравнения.

Наиболее выраженными метаболическими и иммунными нарушениями в первой фазе интоксикации были активация «кислородного взрыва» в нейтрофилах, ЛКТ и НСТ-тестов, ЛДГ и СДГ в лимфоцитах, ферментов антитоксического ответа (уменьшение продолжительности гексеналового сна, активности ГбФДГ), активность ЛДГ и СДГ в лимфоцитах.;

Выявлено повышение стимулированной секреции БТШ70 в крови в

4,8–7,6 раз в первой фазе с последующим снижением или отсутствием ответа на стимуляцию во второй фазе интоксикации (табл.56.)

Таблица 56 — Динамика содержания БТШ70 в плазме крови мышей, получавших с питьевой водой электрофильные ксенобиотики

Концентрация экотоксиканта в воде, мг/л	I фаза (90 сут)		II фаза (270 сут)	
	Концентрация БТШ70, нг/мл	Концентрация БТШ70, нг/мл	Концентрация БТШ70, нг/мл	Концентрация БТШ70, нг/мл
	Базальная	Стимулированная	Базальная	Стимулированная
15	3,9 ± 0,8*	15,9 ± 2,6*	3,1 ± 0,6*	4,5 ± 0,8
30	5,2 ± 1,4*	35,7 ± 3,8*	4,8 ± 1,1	5,8 ± 0,7
60	5,9 ± 1,6*	28,4 ± 3,1*	4,3 ± 1,3	2,5 ± 2,9
Контрол. группа	2,1 ± 0,5	5,1 ± 1,1	2,3 ± 0,9	4,4 ± 1,3

Примечание: * - $p < 0.005$ в сравнении с группой интактных животных

В эксперименте на животных подвергающихся экотоксическим нагрузкам выявлен двухфазный характер иммунометаболических нарушений – активация, сменяющаяся торможением и угнетением .

Двухфазный характер реакций клеточного стресса при хронической интоксикации определяет стратегии разработки средств защиты от поражений при воздействии токсических веществ.

При развитии синдрома сверхкомпенсации необходимы средства, подавляющие реакции клеточного стресса, а синдромов гипореактивности и анергии – активация этих реакции или проведение заместительной терапии.

Это положение послужило основой для проведения исследований по изучению эффективности лигандов TLR, БТШ70 и их индукторов в разные стадии интоксикации электрофильными ксенобиотиками на экспериментальной модели хронической интоксикации у мышей.

В первой стадии интоксикации, которая характеризуется активацией иммунных и метаболических механизмов клеточного стресса оценивали эффективность защитных свойств средств, которые подавляют их избыточную активацию - модифицированных пучком электронов бактериальных ЛПС (эндотоксина *Serratia marcerens*- продигиозана).

Установлено, что в первой стадии интоксикации мЛПС препятствует избыточной активации клеточного иммунитета (по данным РТМЛ с Кона,

ЛПС), показателей «кислородного взрыва» в лейкоцитах, ферментов микросомального окисления (гексеналовый сон) и а-ГФДГ в лимфоцитах. Он также препятствует изменению поверхностных свойств клеточных мембран при экотоксических воздействиях (по данным изменения КР клеток в ДВПС), табл. 57.

Таблица 57. Коррекция иммунных и метаболических нарушений в первой стадии интоксикации

Показатели	Интактные животные	Интоксикация 60мг/л	мЛПС
Лейкоциты, $\times 10^9$ /л	6,15 \pm 0,54	9,05 \pm 0,78*	7,35 \pm 0,75*#
Нейтрофилы, %	67,23 \pm 3,87	30,78 \pm 1,63*	48,55 \pm 4,44*
Нейтрофилы, $\times 10^9$ /л	4,12 \pm 0,39	2,72 \pm 0,26*	3,56 \pm 0,41*
Лимфоциты, %	41,51 \pm 0,71	59,34 \pm 3,93	51,1 \pm 4,21*
Лимфоциты, $\times 10^9$ /л	2,55 \pm 0,56	5,32 \pm 0,64*	3,76 \pm 0,59#
РТМЛ с Кон А	92,61 \pm 5,83	46,7 \pm 5,92*	69,2 \pm 6,73*#
РТМЛ с ЛПС	88,42 \pm 7,81	41,5 \pm 1,87*	70,73 \pm 8,82*#
КВ в нейтрофилах усл.ед.	210 \pm 12	658 \pm 18*	592 \pm 19*
КВ в макрофагах отн.ед.	1.41 \pm 0.02	2,14 \pm 0,05*	1,94 \pm 0.07*#
ЛКТ-тест	1,31 \pm 0,02	1,40 \pm 0,05*	1,41 \pm 0,05*
НСТ-тест базальный	0,11 \pm 0,02	0,31 \pm 0,05*	0,22 \pm 0,04*#
НСТ-тест стимулир.	1,19 \pm 0,17	1,58 \pm 0,26	1,35 \pm 0,25
КоэфАктив (НСТ-тест)	10,81 \pm 0,3	5,12 \pm 0,22*	6,13 \pm 0,23*
СДГ в лимфоцитах	13,43 \pm 0,35	18,72 \pm 0,44*	17,78 \pm 0,51*
ЛДГ в лимфоцитах	12,35 \pm 0,31	19,32 \pm 0,50*	16,33 \pm 0,40*#
а-ГФДГ в лимфоцитах	10,24 \pm 0,64	15,84 \pm 0,78	13,71 \pm 0,69*#
Гексеналовый сон, мин	21,7 \pm 1,3	14,8 \pm 2,1*	17,3 \pm 2,2*

Примечания: *— различия достоверны в сравнении с интактными животными ($P < 0,05$); # — различия достоверны в сравнении с мышами, получающими экотоксиканты в дозе 60 мг/л ($P < 0,05$); мЛПС— модифицированный пучком электронов (150 кГр) ЛПС *Serratia marcerens*.

Таким образом, мЛПС предотвращает избыточную активацию реакций иммунного и метаболического ответа на инкорпорацию электрофильных ксенобиотиков за счет подавления избыточных реакций клеточного стресса нетоксичными производными бактериальных ЛПС.

Во второй стадии интоксикации, которая характеризуется подавлением иммунных и метаболических механизмов антиэлектрофильного ответа, развитием синдромов гипореактивности и анергии оценивали эффективность защитных свойств ПЛАДК *Saccharomyces cerevisiae*, который содержит внеклеточные БТШ70; а также индукторов БТШ70, которые содержатся в

масляном экстракте хмеля, полученном путем высокоинтенсивных импульсных воздействий на исходное сырье [патент РФ № 234167]

Они препятствовали развитию Т-клеточной иммунной гипореактивности ответа (по данным РТМЛ с КонА, ЛПС), избыточному образованию АФК в нейтрофилах (показатели «кислородного взрыва»), снижению показателей ЛКТ и НСТ-тестов, активности ферментов микросомального окисления (гексеналовый сон) и а-ГФДГ в лимфоцитах, повышали активность анаэробных механизмов энергетического обеспечения клеток (ЛДГ). Наибольший защитный эффект установлен у ПЛАДК (табл. 58).

Таблица 58. Коррекция иммунных и метаболических нарушений во второй фазе интоксикации (60 мг/л) у мышей

Показатели	Интактные животные	Контрольная группа	Средства защиты	
			МЭХ	ПЛАДК
Лейкоциты ($\times 10^9$ /л)	6,70 \pm 0,61	3,28 \pm 0,44	5,14 \pm 0,49*	5,94 \pm 0,45*
Лимфоциты($\times 10^9$ /л)	2,28 \pm 0,58	0,81 \pm 0,08	1,62 \pm 0,19*	2,26 \pm 0,28*
РТМЛ с Кон А	96,5 \pm 7,9	151.3 \pm 12,9	82,4 \pm 11,5*	73,7 \pm 11,7*
РТМЛ с ЛПС	92,4 \pm 12,5	188,9 \pm 21,4	78,7 \pm 15,8*	67,4 \pm 17,2*
ЛКТ-тест	1,33 \pm 0,04	1,06 \pm 0,07	1,25 \pm 0,05*	1,19 \pm 0,04*
НСТ-тест базальный	0,13 \pm 0,02	0,37 \pm 0,03	0,31 \pm 0,05*	0,19 \pm 0,04*
НСТ-тест стимулир.	1,16 \pm 0,15	0,67 \pm 0,28	1,19 \pm 0,08*	1,05 \pm 0,18*
Коэфф. активации (НСТ-тест)	8,92 \pm 0,13	1,87 \pm 0,25	3,84 \pm 0,27*	5,53 \pm 0,31*
СДГ в лимфоцитах	13,56 \pm 0,40	9.43 \pm 0,68	11,88 \pm 0,69*	12,71 \pm 0,70*
ЛДГ в Лф	12,15 \pm 0,28	7,81 \pm 0,54	9,73 \pm 0,62*	10,91 \pm 0,50*
а-ГФДГ в Лф	11,76 \pm 0,78	8,21 \pm 1,33	10,15 \pm 0,64*	10,95 \pm 0,59*
Гексенал. сон, мин	25,4 \pm 1,1	47,8 \pm 2,5	38,2 \pm 3,3*	31,3 \pm 3,1*

Примечание: * $p < 0,05$ по сравнению с группой животных получавших экотоксиканты в дозе 60 мг/л

Полученные данные свидетельствуют о том, индукция БТШ70 подавляет развитие гипореактивности, способствует коррекции иммунных и метаболических нарушений при экспериментальном экотоксическом стрессе у мышей.

Результаты экспериментальных исследований послужили основанием для изучения состояния здоровья, иммунных и метаболических нарушений и эффективности средств их коррекции у лиц, подвергающихся длительным экотоксическим нагрузкам – работников нефтеперерабатывающего предприятия «Киришинефтеоргсинтез» в Киришском районе Ленинградской области.

4.2. Состояние здоровья, иммунные и метаболические нарушения и их коррекция у сотрудников нефтеперерабатывающего предприятия

Показатели многолетней заболеваемости населения (1996-2010 гг.) свидетельствуют о том, что в Киришском районе Ленинградской области темпы прироста и первичная заболеваемость болезнями органов пищеварения, инфекционными заболеваниями и злокачественными новообразованиям превышают показатели по Ленинградской области, Санкт-Петербургу, РФ, ЛенВО, ЛенВМБ и ВС РФ.

В Киришском районе первичная заболеваемость болезнями органов пищеварения (XI класс) с 1996 по 2010 год повысилась в 2,8 раза (с 24,87 до 69,63‰). В 2002 г. XI класс болезней занял первое место в структуре заболеваемости населения г.Кириши (99,81‰). В 2010 году заболеваемость язвенной болезнью в Киришском районе составила 5,9‰, Ленинградской области – 2,8‰, Санкт-Петербурге – 3,1‰, РФ – 3,6‰ (ЛенВО- 4,7‰, Лен ВМБ- 5,4‰, ВС РФ- 4,6‰). Повышение заболеваемости болезнями органов пищеварения может быть связано с экотоксическими воздействиями. Выявлены сезонные колебания уровня электрофильных ксенобиотиков в питьевой воде г. Кириши – повышение на 74,2–118,7% в осенний и снижение на 65,4–87,7% в весенний период.

Их концентрация в питьевой воде была повышена в 2002 и 2008 гг. на 64,7% и 47,9% в сравнении со среднемноголетними значениями. В этот период отмечали повышение уровня первичной заболеваемости болезнями системы органов пищеварения.

Содержание электрофильных ксенобиотиков в крови зависело от стажа работы на предприятии. Оно было повышено в 2,3–3,5 раз у лиц со стажем работы 5–15 лет и в 5,3–7,8 при стаже работы более 15 лет в сравнении с группой со стажем менее 5 лет.

Базальный уровень БТШ70 в плазме крови сотрудников со стажем работы до 5 лет составил $3,2 \pm 0,7$ нг/мл, 5-15 лет – $5,8 \pm 1,3$ нг/мл, более 15 лет –

$2,9 \pm 0,7$ нг/мл (в группе контроля – $2,4 \pm 0,6$ нг/мл). Это свидетельствует о том, что электрофильные экотоксиканты повышают БТШ70 в крови, уровень его снижается при длительности экотоксических воздействий более чем 15 лет. Пробы с гипоксией (ингаляция 10 % кислородно-азотной смеси) выявили повышение способности организма к секреции БТШ70 в кровь у лиц с незначительной и умеренной инкорпорацией электрофильных экотоксикантов (стаж работы до 15 лет) и ее снижение при высокой инкорпорации (стаж работы более 15 лет).

Углубленное медицинское обследование сотрудников ООО «Киришинефтеоргсинтез» проводили в период с 1996 по 2010 г. В 1996 г. обследовали 257 работников, у них выявлено 987 заболеваний. Наиболее часто встречались болезни системы кровообращения (21,4%), органов дыхания (19,3%), органов пищеварения (17,6%) и инфекционные заболевания (17,3%). Хронический гастрит и хронический дуоденит регистрировали в 1,7–1,9 раза чаще, чем в контроле. Сочетание четырех форм патологии в 1,5 раза превышало этот показатель у лиц группы сравнения. У 21% лиц со стажем более 15 лет выявлено 8 сочетаний, у 55% из них установлено 9–16 сочетаний хронических форм соматической патологии. В референтной группе только в 12% случаев были выявлены сочетания 8 форм хронических заболеваний. Особенностями хронических болезней при экотоксических воздействиях являются частые обострения, затяжное и рецидивирующее течение, развитие иммунометаболических нарушений. Исследование иммунного и метаболического статуса проводили у сотрудников ООО «Киришинефтеоргсинтез» весной (257 человек) и осенью (139 человек) 2006 г. У лиц со стажем до 10 лет выявлено повышение уровня IgG в сравнении с группой контроля. При стаже работы более 10 лет существенно повышается уровень циркулирующих иммунных комплексов .

Выявлен двухфазный характер изменений в системе иммунного надзора организма, который зависел от стажа работы на нефтехимическом предприятии.

Первоначальная активация клеточного, гуморального и неспецифического иммунного ответа сменяется на его торможение. Декомпенсация системы иммунного надзора организма наступает при стаже работы более 15 лет. Проведенное нами проспективное наблюдение (1996-2010 гг.) за показателями здоровья работников ООО «Киришинефтеоргсинтез» выявило у них рост заболеваемости болезнями органов пищеварения. В 27,5% случаев показатели метаболической активности лейкоцитов, «респираторного взрыва», клеточного и гуморального иммунитета были повышены, в 16,2% - снижены.

При повторном исследовании (осень 1998г.) гиперактивация метаболизма и иммунной системы выявлена в 35,7%, а снижение их активности - в 22,7% случаев.

Проспективные исследования, проведенные в 1996–2010 гг. выявили увеличение до 37,5% лиц с гипореактивностью и уменьшение до 12,5% группы с активацией метаболизма и повышением реактивности иммунной системы.

В 32,5 % случаев у лиц с первоначальной значительной активацией в последующем наступало стойкое снижение реактивности систем иммунной и метаболической защиты, в 47,5% показатели вернулись в пределы нормальных величин, а в 22% случаев происходила длительная (более 24 мес) активация иммунной реактивности с развитием гиперреактивных состояний.

Проспективное наблюдение (1996-2010 гг.) за сотрудниками нефтеперерабаты-вающего предприятия в г. Кириши показало, что число здоровых уменьшилась до 16,8%, хронические заболевания выявлены в 73,2% случаев. Уровень патологической пораженности составил 1536 на 1000 чел.

Выявлено повышение распространенности заболеваний органов пищеварения и частоты затяжного течения язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки до 27,8% (в группе контроля – 13,9%).

У большинства больных ЯБЖ и ЯБДК с затяжным течением была снижена активность дегидрогеназ лимфоцитов (СДГ, ЛДГ, ГАФДГ) и ГР, ГП, Г6ФДГ эритроцитов и выявляли отрицательные результаты активационных

проб РТМЛ с ЛПС, у большей части больных с обычным течением ЯБЖ и ЯБДК были получены оппозитные результаты активационных проб с ЛПС и активности вышеуказанных ферментов (табл.59).

Таблица 59. Изменение иммунореактивности среди обследованных групп (здоровые и больные ЯБЖ и ЯБДК с обычным и затяжным течением)

Иммунореактивность	Здоровые n= 50	Затяжное течение ЯБЖ и ЯБДК (n=66)	Обычное течение ЯБЖ и ЯБДК (n=80)
Норма	44 (88%)	4 (7,1%)	12 (15%)
Гиперреактивность	2 (4%)	8 (14,2%)	63 (78,8%)
Гипореактивность,	4 (8%)	44 (78,7%)	5 (6,2%)

При проспективном наблюдении (1996-2010 гг.) установлено, что заболеваемость язвенной болезнью желудка у лиц с повышением метаболизма лейкоцитов и повышением иммунореактивности в 2,7 раза ($P > 0,01$) превышала аналогичную у лиц с нормальными показателями иммунной реактивности.

Установлено значительное увеличение частоты развития иммунной и метаболической гипореактивности при длительных экотоксических нагрузках и у больных с затяжным течением язвенной болезни.

Это проявляется снижением активности дегидрогеназ лимфоцитов (СДГ, ЛДГ); ГР, Г6ФДГ эритроцитов, и отрицательными результатами активационных проб (РТМЛ с ЛПС).

У больных с обычным течением язвенной болезни результаты активационных проб с ЛПС и активности вышеуказанных ферментов были оппозитными в сравнении с группой с затяжным течением язвенной болезни.

Сравнительный анализ течения язвенной болезни у пациентов, оппозитных по уровню иммунной реактивности свидетельствует о том, что у лиц с признаками гипореактивности затяжное течение язвенной болезни встречается в 1,8 раз чаще, чем в контрольной группе.

Установлен сезонный характер развития иммунных нарушений, которые были наиболее выражены в осенний период.

Перспективные исследования свидетельствуют что отрицательные результаты активационных проб выявляются в основном у лиц с высокой экологической нагрузкой.

Установлено, что ПЛАДК и МЭХ способствовали восстановлению иммунной реактивности у сотрудников нефтеперерабатывающего предприятия. Отмечается активация показателей клеточного звена иммунитета (по данным РТМЛ с КонА, ЛПС и Г-КСФ).

Следовательно, экзогенные БТШ70 (ПЛАДК) и их индукторы (МЭХ) препятствовали развитию иммунной гипореактивности при длительном воздействии химических загрязнителей на организм человека.

Таблица 60 — Коррекция иммунных нарушений у сотрудников ООО «Киришинефтеоргсинтез» (M±m)

Исследуемые Параметры	Группа контроля n=52	Основная группа до лечения n=46	Применяемые средства	
			МЭХ n=20	ПЛАДК n =26
Лейкоциты $\times 10^9/\text{л}$	6,25±0,79	5,43±0,84	5,48± 0,71	6,16±0,63
Лимфоциты $\times 10^9/\text{л}$	3,05±0,75	1,21±0,14*	2,39±0,19*	2,58±0,21*
РТМЛ с КонА	94,2±7,8	144,2±11,3*	70,7±7,3*	62,6±6,9*
РТМЛ с ЛПС	82,7±9,3	133,7± 10,9*	69,4±7,1*	60,3±6,5*
РТМЛ с Г-КСФ	87,5±9,1	129,5±10,7*	63,3±8,4*	76,5±7,8*

Примечание: * - достоверные различия с группой контроля (P<0,05) ПЛАДК- продукт лазерной активации дрожжевой культуры *Saccharomyces cerevisiae*; МЭХ- масляный экстракт хмеля

Результаты проспективных исследований свидетельствуют о том, что при длительном стаже работы на нефтеперерабатывающем предприятии (более 15 лет) развивается синдром иммунной гипореактивности, который также характерен для затяжных формах течения язвенной болезни. Поэтому для лечения этих патологических состояний могут быть использованы средства однонаправленного действия.

При местном лечении торпидно текущих язв желудка использовали облучение периульцерозной зоны лучами лазера на парах меди. Рубцевание язвенного дефекта через 28 сут после начала лазерной терапии в основной группе наступило в 27 из 29 случаев (93,1%), а в группе контроля – в 16 из 27 случаев (59,3%), P <0,05.

Таблица 61. Влияние облучения лазером на парах меди периульцерозной зоны на иммунные и метаболические показатели у больных с затяжным течением язвенной болезни желудка

Показатели	A, n=56	B, n=29	C, n=27
ГР	0,09±0,01	0,22± 0,03*	0,12±0,02
Г6ФДГ	0,32±0,01	0,71±0,06*	0,37±0,03
ЛДГ	7,8±0,6*	25,5±0,9*	11,3±0,6
СДГ	10,8±0,7*	19,3±1,2*	12,8±0,9
РТМЛ с Кона	132,3±11,2	72,4±8,3*	131,6±11,9
РТМЛ с ЛПС	129,3±10,5	68,5±7,9*	127,7±10,6
РТМЛ с Г-КСФ	121,5±10,7	61,7±7,3*	121,4±10,1

Примечания: * – достоверные различия в сравнении с группой контроля ($P>0,05$); Пациенты с торпидным течением ЯБЖ: А – до лечения; В – после лечения (лазерная терапия); С– после лечения группа контроля (обычная терапия)

Облучение периульцерозной зоны лучами лазера с активными средами на парах меди ускоряло рубцевание торпидно текущих язв желудка и значительно (в $5,6\pm 1,2$ раза) повышало уровень БТШ70 в СОЖ периульцерозной зоны. Установлена положительная корреляция между скоростью рубцевания язв и повышением содержания БТШ70 в периульцерозной зоне.

Полученные результаты указывают на роль индукции БТШ70 в СОЖ в механизме противоязвенного действия излучения лазера на парах меди при местном лечении длительно не рубцующихся язв желудка

Полученные данные также свидетельствуют о том, что лазерная терапия способствует восстановлению иммунной реактивности (по данным РТМЛ), активации дегидрогеназ лимфоцитов и ферментов энергетического обмена, которая снижена у больных с затяжным течением язвенной болезни желудка (табл. 61)

Индукторы БТШ70 являются эффективными средствами коррекции синдрома иммунной гипореактивности при длительных экотоксических нагрузках и у больных с затяжным течением язвенной болезни желудка.

ГЛАВА 5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получены средства перекрестной защиты организма при экстремальных воздействиях с использованием лазерных, радиационных и биологических технологий.

Лазерное излучение применяли для активации дрожжевой культуры *Saccharomyces cerevisiae* и клеток кожи, что сопровождалось мобилизацией эндогенных БТШ70.

Модификацию бактериальных ЛПС, полисахаридов из морской травы Зостеры, вируса гриппа (H3N2) и парамиксовируса Сендай осуществляли путем их обработки широко-коапертурным пучком электронов.

Биологические технологии использовали для получения рекомбинантных БТШ70 и их производных пролонгированного действия – БТШ70-ПЭГ и БТШ70-Fc.

Дополнительным молекулярным механизмом повышения эффективности перекрестной защиты от биопатогенов при применении гибридного белка БТШ70-Fc может быть взаимодействие Fc фрагмента IgG с Fc-рецепторами клеток-эффекторов иммунной системы [736].

Полученные результаты подтверждают данные об активации лазерным излучением синтеза эндогенных БТШ70 [468, 290], применении гамма-облучения для получения биологически активных олигосахаридов [664] и нетоксичных производных бактериальных ЛПС [256], а также повышения иммуногенности гриппозной и ротавирусной вакцин [325, 364].

В ответ на экстремальные воздействия развивается клеточный стресс и системное воспаление, которое характеризуется сменой фаз активации и торможения: гиперэргическая провоспалительная фаза (сверактивация иммунной системы) переходит в гипоэргическую - состояние иммуносупрессии, анергии, «иммунный паралич» [41, 375].

Стратегия лечения при системном воспалении направлена на сохранение баланса разнонаправленных систем воспалительного и компенсаторного противовоспалительного иммунного ответа. Сверхактивация воспалительных реакций с развитием «цитокиновой бури» является основой для назначения ингибиторов, а развитие иммуносупрессии – стимуляторов иммунного ответа или заместительной терапии.

Сверхактивацию воспалительных реакций при сепсисе предотвращает блокада TLR4 рецепторов, которая повышает толерантность к бактериальному эндотоксину и позволяет значительно уменьшить летальность при эндотоксическом шоке [465, 483].

Выход фосфатидилсерина на наружную поверхность клеточной мембраны играет важную роль в развитии клеточного стресса, системного воспаления и септического шока. Блокаторы фосфатидилсерина препятствуют развитию этих изменений [252]. Основанием для применения БТШ70 в качестве блокатора фосфатидилсерина при септическом шоке является его специфическое взаимодействие с фосфатидилсерином на наружной поверхности клеточной мембраны [258].

Гиперэкспрессия «тормозных» PD-1 рецепторов лимфоцитов при септическом шоке указывает на высокий риск летального исхода [691]. Блокаторы «тормозных» рецепторов лимфоцитов препятствуют иммуносупрессии при остром системном воспалении [379, 726]. Агонисты TLR4 рецепторов (производные бактериальных ЛПС) подавляют экспрессию PD-1 рецепторов и повышают эффективность применения их блокаторов [739; 358].

Блокаторы PD-1 рецепторов предотвращают «иммунный паралич» и повышают выживаемость животных при септическом шоке [743, 523]. Защитный эффект наиболее выражен при «двойной блокаде» PD-1 и Tim-3 рецепторов [732]. Установлено, что БТШ70 является «двойным блокатором» PD-1 и Tim-3 «тормозных» рецепторов T-лимфоцитов [124].

Результаты исследования свидетельствуют о том, что БТШ70 и мЛПС защищают экспериментальных животных от эндотоксического шока.

Данные, полученные на модели эндотоксического шока у генетически модифицированных мышей без TLR4 (линия С3Н/HeJ) подтверждают представление о том, что механизм защитного действия мЛПС и БТШ70 может быть связан с блокадой TLR4 рецепторов. Это подтверждают результаты исследований на модели сепсиса у генетически модифицированных мышей без TLR4 рецепторов [273]

Подтверждена связь защитного эффекта БТШ70 от биопатогенов с блокадой TLR4 [9, 313].

Выявлено, что блокаторы TLR4 [92, 698, 638] и экзогенный БТШ70 [107; 86; 417] защищают экспериментальных животных от сепсиса и летальных вирусных инфекций.

При сочетании БТШ70 с ЛПС его защитный эффект усиливается [146]. Рекомбинантная конструкция БТШ70-ЛПС защищает мышей от инфекции, вызываемой *Salmonella Typhi murium* [28].

Механизм защитного действия мЛПС и экзогенного БТШ70 при экспериментальном эндотоксическом шоке у мышей включает подавление патологического синдрома клеточного стресса и системного воспаления и может быть связан с воздействием на TLR4 и блокадой «тормозных» рецепторов лимфоцитов.

Острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) — это локализованный ответ на системное воспаление [60]. В патогенезе ОРДС важную роль играют механизмы вышедшей из под контроля системной воспалительной реакции на инфекцию, токсическое воздействие или травму. Высокая летальность при ОРДС (60-80%) коррелирует с повышением уровня воспалительных цитокинов IL-6 и HMGB1 (амфотерина) [150, 459]. Параллельно с активацией каскада провоспалительных цитокинов запускаются и противовоспалительные механизмы — IL-10, α 2-макроглобулин, антагонисты рецепторов TNF и

IL-1 [141, 600]. Блокада системного воспаления способствует снижению летальности и препятствует развитию ОРДС [497].

При ингаляционном поражении фосгеном и высокопатогенном гриппе у мышей выявлено значительное повышение числа Т-лимфоцитов с «тормозными» PD-1 и Tim-3 рецепторами и резким снижением в них уровня гранзима В, что отражает развитие иммунной гипореактивности и анергии («иммунный паралич»).

Защитный эффект БТШ70 связан с блокадой «тормозных» PD-1 и Tim-3 рецепторов CD8⁺ Т-лимфоцитов. Это подтверждают данные о защитном эффекте блокаторов Tim-3 рецепторов при высокопатогенном гриппе H1N1 [509]. Восстановление уровня гранзима В в лимфоцитах при воздействии БТШ70 коррелирует со снижением числа PD-1 и Tim-3-позитивных CD8⁺ Т-лимфоцитов.

Молекулярные механизмы защитного действия БТШ70, БТШ70-ПЭГ и БТШ70-Fc при ОРДС включают нейтрализацию воспалительного цитокина HMGB1, ликвидацию выраженного дисбаланса провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (IL-6/IL-10). Наиболее эффективным было применение БТШ70-Fc.

Это может быть обусловлено блокадой Fc-рецепторов, которые повышают экспрессию «тормозных» Tim-3 рецепторов клеток-эффекторов иммунной системы [653]. Полученные результаты согласуются с данными о подавлении развития ОРДС при высокопатогенном гриппе у мышей при применении препаратов, конъюгированных с Fc-фрагментом IgG1 [264].

Результаты исследования подтверждены работами, которые свидетельствуют о том, что повышение уровня HMGB1 [638] и гиперэкспрессия PD-1 рецепторов Т-лимфоцитов [530] являются маркерами неблагоприятного прогноза ОРДС, а повышение уровня БТШ70, наоборот, предотвращает его развитие [402; 313].

Защитный эффект применения БТШ70 при токсическом отеке легких подтвержден результатами, полученными на модели ингаляционного отравления фосгеном [552; 307]

Эффективность противовирусной защиты при летальной гриппозной инфекции у мышей, вызываемой вирусом H3N2 достоверно повышается при комбинированном применении модифицированных пучком электронов вакцины «Ваксигрипп» и парамиксовируса Сендай (штамм «Москва») за 14 сут до заражения.

Модифицированные пучком электронов вирус гриппа (H3N2) и парамиксовирус Сендай вызывают перекрестный иммунный ответ на разные штаммы вируса гриппа, что может сэкономить средства на разработку новых сезонных противогриппозных вакцин.

Полученные результаты подтверждают данные литературы о развитии перекрестного иммунного ответа на разные штаммы вируса гриппа и повышении иммуногенности противогриппозной вакцины при ее гамма-облучении [325].

Феномен интерференции вирусов используют для защиты от высокопатогенных вирусов путем введения животным непатогенных «лечебных» вирусов [721].

Это ключевой механизм защиты от высокопатогенной гриппозной инфекции, вызываемой штаммами H1N1 и H5N1, парамиксовирусами (парагриппа, вируса болезни Ньюкасла) [590; 715].

Перекрестный защитный эффект непатогенного для человека вируса парагриппа мышей (вируса Сендай) от высокопатогенных вирусов гриппа, парагриппа, метапневмовируса и респираторно-синцитиального вируса может быть связан с тем, что он является мощным индуктором интерферона может быть обусловлен тем, что он является мощным индуктором интерферона [412, 626].

Вирус Сендай используют для получения лекарственного препарата «Интерферон человеческий лейкоцитарный» [27].

Секреция интерферона Т-лимфоцитами активирует перекрестную защиту от разных штаммов вируса гриппа (H1N1 и H3N2) [390]. Т-лимфоциты запускают механизмы перекрестной защиты от разных штаммов вируса гриппа разных штаммов вируса гриппа [405] и других биопатогенов [508]

Выявление свойств «перекрестной защиты» у вируса парагриппа Сендай указывает на возможность получения на его основе средств защиты от террористических атак с использованием таких биопатогенов как новый высокопатогенный вирус парагриппа «Clade X», который по прогнозу Центра Безопасности Здравоохранения при университете Джона Хопкинса (США) может заразить 900 млн человек, 150 млн из них погибнет [223]. Выявление нового высокопатогенного вируса гриппа, который способен вызвать летальное поражение у 80 млн человек диктует необходимость разработки средств перекрестной защиты от разных штаммов вируса гриппа [266]. Модификация вирусов пучком электронов может быть одним из путей решения этой задачи.

Известно, что БТШ70 активирует реакции перекрестной защиты от разных биопато-генов [610].. Индукция эндогенных БТШ70 при введении вакцины БЦЖ вызывает эти реакции перекрестной защиты [386, 271]

Создание средств перекрестной защиты позволит значительно уменьшить дозы вакцин с низкой иммуногенностью и исключить затраты на производство новых ежегодных «сезонных» вакцин, связанных с генетическими мутациями вирусов.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что лазерная мобилизация эндогенных БТШ70 клетками кожи и внутрикожное введение экзогенных БТШ70 в зону вакцинации повышают эффективность противогриппозной вакцины. Адьювантный эффект получен при сочетании лазерного облучения кожи с введением вакцины «Ваксигрип» в зону

облучения, а также при комбинации вакцинации с внутрикожным введением мЛПС и экзогенного БТШ70. Выявлена зависимость адьювантного эффекта лазерного излучения от его экспозиционной дозы. Повышение эффективности вакцинации при лазерном облучении кожи в области введения противогриппозной вакцины связано с мобилизацией эндогенных БТШ70, которые обладают свойствами адьювантов вакцин. Это сопровождается миграцией и активацией антигенпредставляющих дендритных клеток в зону лазерного облучения кожи, что обеспечивает повышение иммуногенности вакцины при ее введении в зону облучения. Полученные результаты подтверждают данные литературы о повышении эффективности вакцин при их применении в комбинации с индуктором БТШ70 эхинохромом и рекомбинантным БТШ70 [136, 270]

Использование адьювантных свойств лазерного излучения снижает потребность в проведении повторных вакцинаций, а также значительно уменьшает дозу антигена, которая была бы достаточной для развития целевого иммунного ответа. Недостатками существующих адьювантов вакцин являются их высокая реактогенность, токсичность и возможность развития системных побочных реакций. Основным адьювантом, разрешенным для клинического применения, является гидроксид алюминия, который активировать только гуморальное звено иммунного ответа, но не влияет на клеточный иммунитет. В качестве адьювантов клеточного иммунного ответа можно использовать цитокины, но их применение ограничено высокой стоимостью препаратов. Технология лазерных адьювантов вакцин, способна значительно усилить целевой иммунный ответ. Локальное воздействие лазера на поверхность кожи не приводит к развитию системных побочных реакций, которые характерны для существующих адьювантов.

Апробацию результатов исследования проводили в Центре Вакцин и Иммунотерапии и Центре Фотомедицины Главного Госпиталя штата Массачусетс и в отделе дерматологии Гарвардской Медицинской Школы (Бостон, США). Подтверждено, что лазерное излучение значительно

повышает иммуногенность противогриппозной вакцины, что позволяет существенно (более чем в 50 раз) снизить дозу вакцины, необходимую для осуществления эффективной вакцинации [280, 522]. Также были подтверждены результаты исследования, которые выявили роль мобилизации и активации дендритных клеток кожи в реализации адьювантного эффекта лазерного излучения при внутрикожной вакцинации [521, 451].

Пилотное клиническое исследование показало, что лазерное облучение кожи вызывает мобилизацию дендритных клеток в зону облучения и вакцинации, которые «захватывают» целевые антигены противогриппозной вакцины и доставляют их в дренирующие лимфатические узлы, что повышает эффективность вакцинации [581]. Комбинированное применение излучения лазера и блокаторов «тормозных» PD-1 рецепторов лимфоцитов приводит к взаимному усилению целевого иммунного ответа [452]. Разработаны портативные лазерные устройства для повышения эффективности вакцинации [251]. Обработка кожи в зоне вакцинации электромагнитным излучением в радиочастотном диапазоне (0,3-10 МГц) также вызывает мобилизацию эндогенного БТШ70 и повышает эффективность противогриппозной вакцины H1N1 [251, 243].

При геморрагическом шоке острая гипоксия вызывает поражения органов-мишеней (печени, почек, легких) и является пусковым механизмом развития патологических синдромов клеточного стресса и системного воспаления [147; 15].

Повышение устойчивости к гипоксии при введении животных в состояние гипобиоза обеспечивает их выживание при летальной массивной кровопотере [156]. Использование для этого газовых и жидких смесей на основе газа ксенона позволяет в 3 раза повысить выживаемость при 50% кровопотере [57, 135]. При геморрагическом шоке установлен защитный эффект антигипоксантов этомерзола и олифена [182; 82].

Индукторы БТШ70 [49; 1; 89; 484; 478; 640] и экзогенный БТШ70 [535] обладают свойствами антигипоксантов и существенно уменьшают зону

поражения при экспериментальном инфаркте миокарда, инсульте и травматических поражениях головного мозга. Это является патофизиологическим обоснованием применения БТШ70 при геморрагическом шоке. Он также связывает фосфатидилсерин на наружной поверхности клеточной мембраны и может использоваться как его блокатор [258]. Блокаторы фосфатидилсерина препятствуют разитию поражений органов-мишеней при геморрагическом шоке, которые обусловлены выходом фосфатидилсерина на наружную поверхность клеточной мембраны в ответ на клеточный стресс [291].

Травматический токсикоз является частным проявлением синдрома «ишемии-репер-фузии», который характеризуется признаками системного воспаления с развитием полиорганной недостаточности в фазе иммунной гипореактивности и анергии и экспонированием фосфатидилхолина на наружной поверхности эндотелия сосудов [42; 155; 665]. Следовательно, антигипоксанты и блокаторы фосфатидилсерина могут быть использованы для предотвращения развития синдрома длительного сдавления. Установлен защитный эффект антигипоксантов при травматическом токсикозе у экспериментальных животных [54, 55]. Наличие у БТШ70 свойств антигипоксанта и блокатора фосфатидилсерина является патофизиологическим обоснованием его применения при травматическом токсикозе.

Установлено, что БТШ70 и его производные пролонгированного действия значительно повышают выживаемость крыс при острой массивной кровопотере и травматическом токсикозе. Они препятствуют развитию системной иммунной воспалительной реакции, снижают соотношение провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-6/ИЛ) , а также защищают органы-мишени (сердце, печень, почки) от поражений и препятствуют разитию рабдомиолиза. Результаты экспериментов свидетельствуют о том, что БТШ70 значительно повышает продолжительность жизни при геморрагическом шоке (в 3,4–5,1 раза). Защитный эффект БТШ70-ПЭГ и БТШ70-Fc более выражен в сравнении с БТШ70. Пациенты с массивной кровопотерей часто погибают из-за

невозможности своевременного оказания им специализированной медицинской помощи. Сформулированная в работе стратегия увеличения продолжительности жизни при геморрагическом шоке расширяет границы так называемого «золотого часа» и позволяет доставить раненых и пострадавших в специализированные медицинские учреждения и спасти им жизнь. Полученные результаты согласуются с данными о роли БТШ-зависимых реакций и активации TLR4-рецепторов в развитии почечной и полиорганной недостаточности при геморрагическом шоке и рабдомиолизе [493, 414]. Они свидетельствуют о том, что БТШ70 повышает устойчивость организма к кровопотере и компрессионной травме, предотвращает развитие геморрагического шока и травматического токсикоза. Известно, что развитие иммуносупрессии при механической травме связано с гиперэкспрессией «тормозных» PD-1 рецепторов [705]. Вероятно, блокада этих рецепторов является одним из механизмов защитного действия БТШ70 при компрессионной механической травме.

Клеточный стресс и системное воспаление играют важную роль в патогенезе радиационных поражений [440]. С этих позиций представляется перспективным применение в качестве радиопротекторов защитных белков клеточного стресса (БТШ70) и блокаторов рецепторов врожденного иммунитета (TLR4 и TLR5) для подавления системных иммунных воспалительных реакций [439], в том числе радиомодифицированного бактериального ЛПС (мЛПС).

Применение мЛПС, БТШ70, БТШ70-ПЭГ и БТШ70-Fc после общего γ -облучения в дозе 10 Гр значительно повышало выживаемость экспериментальных животных. мЛПС и БТШ70 препятствовали развитию лейкопении после облучения в дозе 6,5 Гр. Максимальный защитный эффект выявлен при сочетанном применении БТШ70 и мЛПС. БТШ70 предотвращал развитие нарушений клеточного иммунитета при сублетальном общем гамма-облучении. БТШ70 и мЛПС препятствовали снижению массы селезенки после общего γ -облучения в дозе 6,5 Гр.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что БТШ70, БТШ70-ПЭГ, БТШ70-Fc и мЛПС препятствуют развитию миелосупрессии и иммунных нарушений, а также повышают выживаемость подопытных животных после общего γ -облучения. Цитопротективный эффект усиливается при сочетанном применении мЛПС и БТШ70. Это подтверждают данные о радиопротективных свойствах производных бактериальных ЛПС - агонистов TLR4 [467] и TLR5 – флагеллина [701; 439]. Общее γ -облучение повышает экспрессию «тормозных» PD-1 рецепторов лимфоцитов, что приводит к иммуносупрессии [695]. Блокада этих рецепторов может быть одним из механизмов защитного действия БТШ70 при общем γ -облучении. Индукторы БТШ70 также обладают свойствами радиопротекторов [Kim J.S. et al., 2016].

Результаты исследования свидетельствуют о том, что продукты лазерной стресс-активации клеток ксеногенных по отношению к защищаемому организмов – пищевых дрожжей (ПЛАДК) протезируют нарушенные механизмы защиты от экстремальных патогенных воздействий. Импульсное воздействие излучения лазера на дрожжевую культуру *Saccharomyces cerevisiae* активирует синтез и мобилизацию эндогенных БТШ70, которые защищают экспериментальных животных от радиационных поражений. ПЛАДК *Saccharomyces cerevisiae* повышает выживаемость, препятствует развитию метаболических нарушений, вызываемых сублетальным общим γ -облучением у мышей, восстанавливает активность клеточного звена иммунитета и подавляет избыточную активацию перекисных процессов. На основании полученных результатов предложена концепция стресс-ксенобиотерапии – применение продуктов стресс-активации ксеногенных по отношению к защищаемому организмов импульсными воздействиями физических факторов высокой интенсивности. Это соответствует данным о защите организма человека от поражений при экстремальных воздействиях активированной сывороткой, полученной из крови животных и птиц после дозированного воздействия на них факторов

стресса высокой интенсивности (электростимуляция, сдавливание мягких тканей, «высотная гипоксия») [193; 454]. «Высотная гипоксия» является мощным индуктором эндогенного БТШ70 у экспериментальных животных [458].

В патогенезе декомпрессионной болезни ключевую роль играют острая декомпрессионная гипоксия, а также реакции клеточного стресса и системного воспаления, которые, обусловлены повреждением клеток эндотелия сосудов при внутрисосудистом газообразовании [601]. Для подавления этих реакций применяют антигипоксанты и стресс-протекторы. Патогенетически обосновано применение гипербарической оксигенации, которая предотвращает развитие декомпрессионной гипоксии и запускает синтез эндогенных защитных белков стресса – БТШ70. Инертный газ ксенон также повышают резистентность организма к гипоксии при экстремальных глубоководных погружениях [57]. Стресс-протектор «Эскин» (экстракт Каштана конского «Fructus aesculini hippocastani») предотвращает повреждение клеток эндотелия, подавляет патологические реакции клеточного стресса и, системного воспаления, снижает уровень воспалительных цитокинов HMGB1, IL-6, TNF- α , IL-1 β и предотвращает развитие декомпрессионной болезни при глубоководных погружениях [Zhang K. et al., 2017].

Результаты исследования свидетельствуют о том, что отсутствие повышения БТШ70 или его снижение при барокамерной симуляции экстремальных глубоководных погружениях указывают на развитии дезадаптации, что является основанием для применения экзогенных защитных белков стресса – БТШ70 (БТШ70-ПЭГ, БТШ70-Fc) для профилактики и лечения декомпрессионной болезни. Эти препараты препятствуют развитию декомпрессионной болезни при моделировании глубоководных погружений у экспериментальных животных.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что БТШ70 и его производные являются актопротекторами. Они значительно (в 2-3 раза) повы-

шают выносливость и физическую работоспособность при интенсивных ищающих физических нагрузках. БТШ70 восстанавливает целостность мембран миоцитов, увеличивает плотность их капиллярной сети и способствует репарации мышц за счет активации их сателлитных стволовых клеток, снижает уровень провоспалительного цитокина ИЛ6 при сохранении повышенного содержания в крови противовоспалительного цитокина ИЛ10.

БТШ70 подавляет асептическое воспаление, рабдомиолиз и дистрофию мышц, стимулирует ангионеогенез и репаративные процессы при повреждении миоцитов. Известно, что провоспалительные цитокины играют важную роль в развитии повреждений клеточных мембран миоцитов при экстремальных физических нагрузках[686]. Это коррелирует с повышением уровня нейтрофилов и лимфоцитов в крови, однако при повышении интенсивности и продолжительности нагрузок количество лимфоцитов достоверно снижается, значительно повышается число лимфоцитов с «тормозными» PD-1 рецепторами что обуславливает развитие иммуносупрессии [674, 663].

Другим механизмом развития иммуносупрессии при экстремальных физических нагрузках может быть развитие синдрома стрессорного иммунодефицита потребления, феномена «исчезающих антител», который связан с блокадой Fc рецепторов активированных лейкоцитов сывороточными антителами (их Fc-фрагментами), который зарегистрирован в качестве научного открытия [175].

Возможным механизмом защитного действия БТШ70 при экстремальных физических нагрузках является блокада «тормозных» PD-1 рецепторов Т-лимфоцитов, повышение эффективности БТШ70-Fc связана с тем, что он дополнительно блокирует Fc-рецепторы клеток-эффекторов иммунной системы.

Полученные результаты согласуются с данными о снижении физической работоспособности при дефиците эндогенного БТШ70, который защищает мышцы от экстремальных стрессорных воздействий, повышает эффективность процессов регенерации и репарации мышц [531, 446, 473].

Выбор стратегии адаптации, направленность и выраженность иммунного и метаболического ответов на воздействие экотоксикантов веществ зависит от их концентрации и продолжительности воздействия на организм. Длительное воздействие малых доз ксенобиотиков вызывает продолжительную реакцию клеточного стресса, активацию систем иммунной и метаболической защиты. Их недостаточная активация свидетельствует о снижении адаптационного потенциала клеток, а гиперактивация вызывает развитие синдромов сверхкомпенсации. Электрофильные ксенобиотики первоначально активируют ферменты энергетического обмена (СДГ и ЛДГ), во второй фазе интоксикации их активность значительно снижается. Увеличение длительности интоксикации уменьшает способность лейкоцитов реагировать на активаторы. Результаты проспективных исследований свидетельствуют о том, что повышение ответа лейкоцитов на активаторы (индукция секреции цитокинов и БТШ70) может быть критерием эффективности лечения синдромов гипореактивности.

Оценка изменений активности ферментов микросомального окисления (проба с фенобарбиталом) и «кислородного взрыва» в первой фазе интоксикации показала, что малые дозы электрофильных ксенобиотиков повышают способность организма к окислению токсических молекул. Во второй фазе интоксикации активность системы биологического окисления значительно снижается, что свидетельствует о развитии дезадаптации.

Электрофильные ксенобиотики вызывают двухфазные изменения клеточного иммунитета. Первоначальное торможение миграционной активности лейкоцитов (РТМЛ) в ответ на ЛПС сменяется на ее ускорение при увеличении концентрации и времени действия токсикантов. Повышение стимулированной секреции БТШ70 сменяется на снижение или отсутствие ответа на стимуляцию. Двухфазный характер реакций клеточного стресса при хронической интоксикации определяет стратегии разработки средств защиты от поражений при воздействии токсических веществ. В первой стадии интоксикации, которая характеризуется активацией иммунных и метаболических ре-

акций клеточного стресса применяют мЛПС, который препятствует избыточной активации этих реакций. Во второй стадии используют продукт лазерной активации дрожжевой культуры (ПЛАДК) и масляный экстракт хмеля (МЭХ), которые препятствуют развитию иммунной и метаболической гипореактивности. Наибольший защитный эффект установлен у ПЛАДК. Стресс-ксенобиотерапия с мобилизацией эндогенного БТШ70 у ксеногенных по отношению защищаемому организмов препятствует развитию иммунных и метаболических нарушений при экспериментальном экотоксическом стрессе у мышей.

Активация ферментов восстановительного обмена в первой фазе интоксикации - это реакция адаптации, которая защищает клетки от токсического действия высоких доз электрофильных ксенобиотиков. Критерием адаптации является постепенное уменьшение реакции «клеточного стресса», а ее срыва – преждевременное торможение этих реакций, развитие гипореактивности и гипоэргии. Недостаточная выраженность реакций «клеточного стресса» требует дополнительной активации ферментов восстановительного обмена, активации секреции цитокинов и БТШ70, а при дальнейшем снижении метаболического обеспечения функций клетки – назначения заместительной терапии. Повышение уровня БТШ70 при экотоксических воздействиях представляет собой реакцию адаптации [381, 279].

Ответная реакция организма на токсические воздействия включает три стадии: стресс-активацию, развитие толерантности к воздействию химических загрязнителей и срыв адаптации, развитие гипореактивности и гипоэргии. Выявление стадии и характера ответной реакции организма определяет стратегию лечения, которая должна соответствовать этой стадии. Разнонаправленность реакции адаптации организма в различные стадии интоксикации диктует необходимость их ранней диагностики для оптимизации лечения – предотвращение избыточной активации систем иммунной и метаболической защиты в первой фазе; преодоление толерантности клеток к регуляторным воздействиям или проведение заместительной терапии во второй фа-

зе интоксикации. Одним из путей решения этой задачи является повышение уровня эндогенных защитных внеклеточных БТШ70 в первой фазе и применение экзогенных БТШ70 при отрицательных результатах активационных проб во второй фазе хронической интоксикации.

«Гистохром», производное гидроксинафтохинона обладает свойствами индуктора БТШ70 [123]. Полученные результаты свидетельствуют о том, что он активирует антиэлектрофильный ответ и секрецию БТШ70. Масляный экстракт хмеля обладает аналогичными свойствами.

Разработана тактика лечения иммунных и метаболических нарушений при экстремальных и экотоксических воздействиях на основе использования активационных проб – стрессактивации (мобилизации) эндогенных БТШ70 (гипоксическая проба); активационные пробы с ЛПС (РТМЛ, секреция цитокинов).

Значительное повышение заболеваемости болезнями органов пищеварения у работников нефтеперерабатывающего предприятия может быть связано с экотоксическими воздействиями. Оно коррелирует с периодами повышения концентрации ксенобиотиков в питьевой воде в сравнении с среднесуточными значениями. При увеличении продолжительности экотоксических воздействий уровень БТШ70 в крови снижается. Ингаляционные пробы с гипоксией выявили снижение способности организма к секреции БТШ70 в кровь у лиц с длительной и высокой инкорпорацией экотоксикантов.

Особенностями хронических болезней при экотоксических воздействиях являются частые обострения, затяжное и рецидивирующее течение, развитие иммунометаболических нарушений. Выявлен двухфазный характер изменений в системе иммунного надзора организма, который зависит от стажа работы на нефтехимическом предприятии.

Первоначальная активация иммунного ответа часто (32,5%) переходит в его торможение. Отрицательные результаты активационных проб выявляют в основном у лиц с высокой экотоксической нагрузкой и свидетельствуют о

развитии иммунной гиперреактивности. Она также развивается при затяжных формах течения язвенной болезни. Для лечения этих синдромно-сходных патологических состояний могут быть использованы средства однонаправленного действия.

ПЛАДК и МЭХ способствуют восстановлению иммунной реактивности у сотрудников нефтеперерабатывающего предприятия. При затяжном течении язвенной болезни значительно повышается частота развития иммунной и метаболической гипореактивности. Полученные результаты свидетельствуют о связи противоязвенного эффекта лазерного облучения периульцерозной зоны с индукцией эндогенных БТШ70 и восстановлением показателей иммунной реактивности. Они подтверждены исследованиями L.Gang et al. . [290] и согласуются с данными литературы о роли БТШ70 и их индукторов в заживлении язвенного дефекта[624, 418, 662].

Результаты исследования свидетельствуют о том, что рекомбинантные БТШ70, их производные пролонгированного действия, а также продукты физической модификации биомишеней являются перспективными средствами перекрестной защиты от экстремальных воздействий. Использование лазерных технологий позволяет значительно повысить эффективность вакцинации для защиты от биопатогенов.

ВЫВОДЫ

1. Патологической основой применения защитных белков клеточного стресса – БТШ70 для лечения эндотоксического шока, высокопатогенной гриппозной инфекции, отравлений фосгеном, циклофосфаном и при общем γ -облучении у мышей является блокада механизмов развития клеточного стресса и его системных проявлений
2. Введение радиомодифицированного бактериального ЛПС защищает экспериментальных животных при эндотоксическом шоке, высокопатогенной гриппозной инфекции, отравлениях фосгеном и циклофосфаном, общем γ -облучении путем повышения толерантности к бактери-

альному эндотоксину, который активирует системное воспаление и клеточный стресс

3. Эффективность применения производных БТШ70 (БТШ70-ПЭГ, БТШ70-Fc) для перекрестной защиты от биопатогенов, токсических и радиационных поражений превышает результаты, полученные при использовании немодифицированного БТШ70. Максимальный эффект получен при комбинированном введении БТШ70 и радиомодифицированного бактериального ЛПС
4. Механизм защитного действия БТШ70 при высокопатогенной гриппозной инфекции и ингаляционном отравлении фосгеном у мышей включает восстановление баланса провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, нейтрализацию воспалительного цитокина амфотерина и блокаду «тормозных» рецепторов Т-лимфоцитов.
5. Лазерное облучение кожи в зоне вакцинации повышает эффективность противогриппозной вакцины «Ваксигрипп» за счет мобилизации эндогенного БТШ70
6. Модифицированные пучком электронов парамиксовирус Сендай и вакцина «Ваксигрипп» активируют механизмы перекрестной защиты от вирусов гриппа H1N1 и H3N2
7. Введение БТШ70 и его производных (БТШ70-ПЭГ и БТШ70-Fc) повышает устойчивость экспериментальных животных к компрессионной травме и острой массивной кровопотере, препятствуют развитию декомпрессионной болезни при барокамерном моделировании глубоководных погружений
8. Применение БТШ70 и его производных (БТШ70-ПЭГ и БТШ70-Fc) повышает выносливость и физическую работоспособность при истощающих физических нагрузках. Это обусловлено снижением уровня провоспалительных цитокинов, повышением плотности капиллярной сети,

активацией репарации поврежденных мышц в результате стимуляции их стволовых сателлитных клеток

9. Введение продукта лазерной активации дрожжевой культуры *Saccharomyces cerevisiae* (ПЛАДК), защищает экспериментальных животных от радиационных поражений и хронических экотоксических воздействий
10. Отрицательные результаты активационных проб при экотоксических воздействиях свидетельствует о развитии гипореактивности иммунной системы и являются основанием для назначения заместительной терапии у мышей: экзогенных БТШ70 и продукта лазерной активации дрожжевой культуры (ПЛАДК).
11. Развитие БТШ-зависимого синдрома гипореактивности иммунной системы является основанием для применения ПЛАДК при экотоксических воздействиях у людей и лазерного облучения периульцерозной зоны у пациентов с затяжным течением язвенной болезни желудка. Введение БТШ70 (ПЛАДК) и индукция эндогенных БТШ70 способствуют восстановлению функций иммунной системы и заживлению язвенного дефекта слизистой желудка

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для повышения эффективности вакцинации рекомендовано применение лазерных адьювантов вакцин, которые могут снизить необходимую для ее проведения дозу вакцины более чем в 50 раз
2. Для получения перекрестного иммунного ответа на разные штаммы вируса гриппа рекомендовано использование модифицированных пучком электронов вируса гриппа (H3N2) и парамиксовируса Сендай. Это может сэкономить средства на разработку новых сезонных противогриппозных вакцин.
3. Для защиты от токсических и радиационных поражений рекомендовано введение модифицированного пучком электронов бактериального ЛПС и эк-

зогенного БТШ70..

4. При интенсивных истощающих физических нагрузках рекомендовано применение в качестве актопротекторов БТШ70 и их производные пролонгированного действия (БТШ70-ПЭГ и БТШ70-Fc).

5. Для предотвращения развития геморрагического шока, травматического токсикоза и токсического отека легких рекомендовано использовать рекомбинантный БТШ70

6. Рекомендован критерий эффективности применения БТШ70 при высокопатогенном гриппе и ингаляционном отравлении фосгеном у мышей – снижение числа PD-1+ и Tim-3+ CD8+ Т-лимфоцитов ниже 20% и 2%, соответственно, или уровня HMGB1 в сыворотке крови ниже 60 пг/л через 3 суток после заражения (интоксикации)

7. Рекомендовано применять экзогенные БТШ70 для восстановления функций иммунной системы при экотоксических воздействиях при отрицательных результатах активационных проб с ЛПС

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АлТ	– аланинаминотрансфераза
АПК	– антигенпредставляющие клетки
АсТ	– аспартатаминотрансфераза
АФК	– активные формы кислорода
БТШ	– белки теплового шока
БТШ70-ПЭГ	– конъюгат БТШ70 с полиэтиленгликолем
БТШ70-Fc	– гибридный белок на основе БТШ70 и Fc фрагмента антитела
ВЭЖХ	– высокоэффективная жидкостная хроматография
ГАФДГ	– глицеральдегидфосфатдегидрогеназа
Г6ФДГ	– глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа
Г-КСФ	– гранулоцитарный колониестимулирующий фактор
ГТПП	– гамма-глутамилтранспептидаза
ГР	– глутатион-редуктаза
Гр	– Грей
ГП	– глутатион-пероксидаза
ГТФ	– глутатион-трансфераза
ГЗТ	– гиперчувствительность замедленного типа
ДК	– дендритные клетки

- ДНХБ – динитрохлорбензол
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
ИБС – ишемическая болезнь сердца
ИЛ – интерлейкин
КА – коэффициент активации
кДа – килодальтон
КонА – конканавалин-А
КУМ – коэффициент устойчивости мембран
КФК – креатинфосфокиназа
ЛДГ – лактатдегидрогеназа
ЛК – клетки Лангерганса
ЛКТ – лизосомально-катионный тест
ЛОС – липоолигосахариды
ЛПВП – липопротеиды высокой плотности
ЛПС – бактериальный липополисахарид
ЛПС_м – липополисахарид из морских микроорганизмов
ЛФ – лимфоциты
МИФ – медиана интенсивности флуоресценции
мЛПС – модифицированный бактериальный липополисахарид
МФ – макрофаги
МЭХ – масляный экстракт хмеля
НАДФ – никотинамиддинуклидфосфат
НК – натуральные киллеры
НСТ – нитросиний тетразолий
НФ – нейтрофилы
ОВ – отравляющие вещества
ОВГГ – окружной военный клинический госпиталь
ПДК – предельно допустимая концентрация
ПЛАДК – продукт лазерной активации дрожжевой культуры
ПОЛ – перекисное окисление липидов
ПМЯЛ – полиморфноядерные лейкоциты
РАН – Российская Академия Наук
РБТЛ – реакция бласттрансформации лимфоцитов
РДС – респираторный дистресс-синдром
РТМЛ – реакция торможения миграции лейкоцитов
РФФИ – Российский Фонд Фундаментальных Исследований
СДГ – сукцинатдегидрогеназа
СК – стволовая клетка
СОД – супероксиддисмутаза
СОЖ – слизистая оболочка желудка
СПЖ – средняя продолжительность жизни
СПП РАН- секция прикладных проблем Российской Академии Наук
СЦК – средний цитохимический коэффициент
ТНХБ – тринитрохлорбензол
ТХА – термохимическая активация

- ТХУ – трихлоруксусная кислота
ФГА – фитогемагглютинин
ФГДС – фиброгастродуоденоскопия
ФДА – флюоресцеина диацетат
ФП – флавопротеины
ФНО – фактор некроза опухоли
ФУМ – фактор, угнетающий миграцию лейкоцитов
ФЦП – Федеральная Целевая Программа
ХАУ – хлорированные ароматические углеводороды
ХГВ – хронический гепатит В
ХЭ – холинэстераза
ЦИК – циркулирующие иммунные комплексы
ЩФ – щелочная фосфатаза
ЭМ – электронная микроскопия
Э-КСФ – эритроцит-колониестимулирующий фактор
ЯБДПК – язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки
ЯБЖ – язвенная болезнь желудка
АНР – рецепторы ароматических углеводов
CD – кластер дифференцировки лимфоцитов
CMV – цитомегаловирус
FXR – рецепторы фарнезоидов
Fc- фрагмент – константная часть молекулы иммуноглобулинов
Fc- рецептор - рецептор константной части молекулы иммуноглобулинов
GM-CSF– гранулоцит-макрофаг колониестимулирующий фактор
GSH – восстановленный глутатион
GST – окисленный глутатион
HBV – вирус гепатита В
HBsAg – австралийский антиген (поверхностный антиген вируса гепатита В)
HCV – вирус гепатита С
HMGB1 – цитокин позднего действия амфотерин
HLA – лейкоцитарный антиген человека
MHC – главный комплекс гистосовместимости
NK – натуральные киллеры
TLR – рецепторы врожденного иммунитета

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агафонова И.Г. Средство для лечения ишемии сосудов головного мозга /И.Г. Агафонова и др. / Патент РФ №2625740 заявл. 10.10.2016/ опубл. 17.07.2017.- Бюл. № 20
2. Адаптивное реагирование иммунной системы людей, проживающих вблизи химически опасного объекта / С.В. Петленко [и др.] // Воен.-мед. журнал. – 2011. – №10. – С.15-23.
3. Азнаурян А.В. Иммуноцитокнины в развитии краш-синдрома / А.В. Азнаурян, М.Ю. Артищева, А.С. Азнаурян // Морфология. – 2006. – Т. 129, № 4. – С. 6.
4. Активация лимфоцитов под воздействием гриппозной вакцины в сочетании с низкомолекулярным германий-органическим соединением / В.А. Ляшенко [и др.] // Журн. микробиол. эпидемиол. и иммунобиол. – 2012. – №6. – С. 64-68.
5. Андреева Л.И. Теоретическое и прикладное значение белков теплового шока 70 кДа; возможность практического применения и фармакологической коррекции // Обзоры по клин, фармакол. и лек. терапии. 2002. Т. 1. № 2. С. 2-18.
6. Андреева, Л.И. Особенности внутриклеточного содержания и функциональная роль белков теплового шока семейства 70 кДа при стрессе и адаптации / Л.И. Андреева, А.А. Бойкова, Б.А. Маргулис // Технологии живых систем. – 2009. – № 3. – С. 11-17.
7. Андреева, Л.И. Оценка адаптогенных свойств родиолы розовой в культуре изолированных мононуклеарных клеток крови человека и в тканях крысы / Л.И. Андреева, А.А. Бойкова, Д.В. Никифорова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2013. – № 2. – С. 23-27.
8. Антонишкис Ю.А, Несмеянов А.А. Способ лечения заболеваний, требующих стимуляции иммунитета и репаративных процессов /Патент РФ №.2517060. –заявл. 14.07.2012/ опубл. 27.05.2014. – Бюл. №15

9. Антонова, О. Ю. Модулирующий эффект экзогенного белка теплового шока (БТШ70) на клетки врожденного иммунитета млекопитающих при действии липополисахаридов разной структуры: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.01.04 / О. Ю. Антонова ; Институт биофизики клетки РАН. – Пушино, 2013. – 28 с.
10. Антушевич А.Е. Противолучевая активность препаратов, содержащих дисульфиды глутатиона /А.Е.Антушевич [и др.] // Вестник Российской Военно-медицинской академии 2019. – №1(65). – С. 127-130
11. Барташевич Б.И. Компрессионная травма – синдром длительного сдавливания / Б.И. Барташевич, И.Б. Карлова // Врач скорой помощи. – 2010. – № 5. – С. 591 - 596.
12. Битанова Э. Ж. Иммунологический гормезис как возможный экоадаптационный механизм / Э.Ж. Битанова // Сборник материалов Всероссийской научной конференции «Профилактическая медицина в России: Истоки и современность» – Казань, 2009. – Т.1. – С. 27-28.
13. Ближайшие медицинские последствия радиационных инцидентов на территории бывшего СССР / Л.А. Ильин [и др.] // Мед. труда пром. экол. – 2012. – № 10. – С. 6-10.
14. Большешапов, А.А. Закономерности изменений оксидативных и восстановительных процессов при язвенной болезни желудка, двенадцатиперстной кишки и их влияние на исходы хирургического лечения : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.27 / А.А. Большешапов ; ИГМУ. – Иркутск, 2007. – 27 с.
15. Бражников А.Ю. Острая патологическая кровопотеря во время беременности и родов с позиции системного воспаления / Автореф. ... дисс. канд. мед. Екатеринбург. – 2015. - 24с.
16. Брехман, И. И. Валеология – наука о здоровье / И. И. Брехман. – М. : Физкультура и спорт, 1990. – 208 с
17. Бурангулов Н.И [и др.]. Фильтр для табачных изделий / Патент РФ № 2220632 . – заявл. 18.09.2000 / опубл. 10.01.2004. – Бюл. №1

18. Ветошкин В.Г. [и др.] Вакцина против гипертонии /Патент РФ №2259847 . – заявл. 12.08.2005; опубл. 10.09.2005. – Бюл. №25
19. Вербенко, В.Н. Термоиндуцированная радиорезистентность клеток *Escherichia coli* и белки теплового шока / В.Н. Вербенко, А.Т. Ахмедов, В.Л. Калинин // Радиобиология. – 1986. – Т. 26, № 4. – С. 453–459.
20. Влияние иммуномодулятора «Стимфорте» на иммунологические показатели у мышей на фоне индуцированной иммуносупрессии / Е.А. Лебединская [и др.] // Современные наукоемкие технологии. – 2010. – №2. – С. 99.
21. Влияние малых доз синтетического аналога хиноидного радиотоксина на жизнеспособность нормальных и гамма-облученных животных / В.А. Копылов [и др.] // Радиационная биология, радиоэкология, 1996. – Т. 36, № 3. – С. 349-54.
22. Влияние пантовых препаратов на выносливость белых крыс к физической нагрузке / Л.Н. Шорина [и др.] // Современные наукоемкие технологии. – 2007. – №6. – С. 27-30.
23. Влияние перфторана на морфологию эритроцита при острой кровопотере. / В.В. Мороз [и др.] // Общая реаниматология. – 2013. – № 5. – С. 5-10.
24. Влияние препарата Панавир на репродукцию вируса гриппа / Е.Н. Прокудина [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. – 2006. – № 6. – С. 7-10.
25. Влияние силы компрессии конечности на выраженность морфологических изменений при синдроме длительного сдавления / А.П. Трухан [и др.] // Новости хирургии. – 2013. – № 5. – С. 18 - 23.
26. Влияние физической нагрузки на экспрессию генов HSPBP1, PGLYRP1 и HSPA1A в лейкоцитах человека / М.Ю. Шкурников [и др.] // Бюлл. Эксперим. Биол. Мед. – 2012. – №6. – С.848-849.
27. Волкова Л. В. Природные «альфа»-интерферон и антибактериальный пептидный комплекс: технология получения, новые лекарственные формы,

оценка эффективности / Л. В. Волкова. - Пермь : Ин-т экол. и генет. микроорганизмов УрО РАН, 2004. - 44 с.

28. Воробьев Д. С. Рекомбинантная конструкция БТШ70-ЛПС индуцирует защиту мышей от *Salmonella typhimurium*. Оценка протективной роли белка теплового шока-70 и липополисахарида / Д. С. Воробьев, И. Б. Семёнова // Медицинская иммунология. – 2009. – Т.11, № 4-5. – С. 306-309 .

29. Воробьева В. В. Защитные эффекты метапрота и этомерзола при отравлении карбофосом / В.В. Воробьева, И.В. Зарубина, П.Д. Шабанов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2012. – №8. – С. 25-30.

30. Гавреев А. И. Актопротекторные свойства антигипоксантов тиазолииндолового ряда / А.И. Гавреев, В.В. Марышева, Я.О. Шабанов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2010. – Т. 73, №2. – С. 25-30.

31. Гайзатуллин Р. Р. Иммунологические подходы к разработке средств экстраиммунной терапии при многофакторной экопатологии : автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Р.Р. Гайзатуллин ; Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных. – Казань, 2012. – 48 с.

32. Гамалей И.А. Перекись водорода как сигнальная молекула / И.А. Гамалей, И.В. Клубин // Цитология. – 1996. – Т. 38, №12. – С. 1233-1247.

33. Гаркави Л. Х. Активационная терапия / Л. Х. Гаркави. – Ростов на Дону : Изд-во Ростовского ун-та, 2006. – 256 с.

34. Гаркави Л.Х. Закономерность развития качественно отличающихся общих неспецифических адаптационных реакций организма / Л.Х. Гаркави, М. А. Уколова, Е. Б. Квакина // Открытия в СССР. – 1975. – № 3. – С. 56-61.

35. Гетеросубтипический иммунный ответ и защита от высокопатогенного вируса гриппа А (H5N1) у мышей, иммунизированных холодадаптированным вирусом гриппа А/Ленинград/134/17/57(H2N2) / А.Р. Рекстин [и др.] // Мед. Иммунол. – 2005. –Т.7. – С. : 503-510

36. Голубков А.В. Исследование изменений иммунного статуса у лиц, проживающих в условиях химического загрязнения: автореф. дис. ... канд.

мед. наук: 14.03.09, 14.03.04 / А.В. Голубков ; Военно- медицинская академия им. С.М. Кирова. – СПб., 2011. – 23 с.

37. Гребенюк Е. С. Кошаперон белка теплового шока – маркер адаптации высококвалифицированных спортсменов к физической нагрузке: автореф. дис. канд. биол. наук / Е. С Гребенюк ; Всероссийский научно – исследовательский ин –т физ. культуры и спорта. – М., 2010. – 28 с.

38. Гришин О.В. Адаптивный гипометаболизм у человека / О.В. Гришин // Вестник Рос. Академии мед. наук. – 2011. – № 8. – С.33-41

39. Гуляева И.Л. Новые подходы к фармакокоррекции неспецифических составляющих патогенеза токсических поражений : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / И.Л. Гуляева ; Научно – исследовательский институт фармакологии Томского научного центра СО РАМН. – Томск, 2009. – 46 с.

40. Гусев Е. Ю. Системное воспаление: теоретические и методологические подходы к описанию модели общепатологического процесса. Часть 3. Предпосылки несиндромального подхода / Е. Ю. Гусев, В. А. Черешнев // Патологическая физиология и экспериментальная терапия 2013. – № 3. – С. 3-14.

41. Гусев Е.Ю Системное воспаление: теоретические и методологические подходы к описанию модели общепатологического процесса. Часть. 4. Динамика процесса / Е.Ю Гусев, В.А. Черешнев // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2014. – Т. 58, № 4. – С. 4-16

42. Даглатова А.А. Патогенетическая значимость изменений адаптивного иммунитета при синдроме длительного сдавления / Автореф. ... дисс. канд. мед. – Махачкала, 2016. – 24с.

43. Диброва Ю.А. Особенности иммунитета у пациентов при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки / Ю.А. Диброва, А.А. Стаценко // Клиническая хирургия. – 2009. – № 3. – С. 9-14.

44. Длительные физические нагрузки приводят к увеличению концентрации кошаперона белка теплового шока с молекулярной массой 70 кД / Е.С.

- Гребенюк [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2010. – № 5. – С.574-578.
45. Додина Л.Г. Нарушение здоровья населения и механизмы адаптации в условиях воздействия антропогенных факторов малой интенсивности : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Л.Г. Додина ; Саратов. гос. мед. ун-т., С-Петербург. гос. мед. акад. им. И.И. Мечникова. – СПб., 1998. – 43 с.
46. Дорогова О.А. Способ получения адаптогенного препарата Дорогова фракции 4 и фракции 5 / Патент РФ 2509565. – заявл. 18.05.2012/ опубл. 20.03.2014. – Бюл. №8.
47. Драчев И.С. [и др.] Радиозащитное средство / Патент РФ №2428192. – заявл. 10.06.2010 /опубл. 10.09.2011. – Бюл. № 25
48. Евдонин, А. Л. Внеклеточный белок теплового шока 70 и его функции / А. Л. Евдонин, Н. Д. Медведева // Цитология. – 2009. – Т. 51, № 2. – С. 130-137.
49. Еляков Г.Б. Лекарственный препарат «Гистохром» для лечения острого инфаркта миокарда и ишемической болезни сердца / Г.Б.Еляков и др./ Патент РФ № 2137472 заявл. 12.10.1998/ опубл.20.09.1991
50. Епифанцев, А.В К вопросу о патогенезе интоксикации человека диоксинами: теория биологического усиления первичного действия диоксинов / А.В. Епифанцев // Тезисный доклад II съезда Токсикол. России, – М., 2003 . – С.95- 98
51. Ермак, И. М. Взаимодействие бактериальных липополисахаридов с белками и полисахаридами. Модификация физиологической активности липополисахаридов : автореф. дис. ... д-ра хим. наук / И. М. Ермак ; Тихоокеанский ин-т биоорганической химии Дальневосточного отделения РАН. – Владивосток, 2006. – 47 с.
52. Заболевания иммунной системы. Диагностика и фармакотерапия / Н.М. Калинина [и др.]. – М. : Изд-во Эксмо, 2008. – 496 с.
53. Забродин О. Н. Фармакологические, иммунологические и медицинские аспекты симпатической стимуляции репаративной регенерации / О.Н. За-

бродин // Психофармакология и биологическая наркология. – 2006. – Т. 6, № 4. – С. 1341-1346.

54. Зарубина, И.В. Метаболическая коррекция полиорганной недостаточности в раннем периоде травматического токсикоза / И.В. Зарубина // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2012. – № 4. – С. 3 -15.

55. Зарубина И.В. Травматический токсикоз и антитоксические средства / И.В. Зарубина, П.Д. Шабанов // С-Пб. 2014. – Изд-во «Информ-Навигатор» . – 416 с.

56. Заславская, М.И. Взаимодействие *Candida Albicans* с нейтрофилами и эпителиоцитами в экспериментальных системах : автореф. дис. ... доктора биол. наук: 03.00.07, 14.00.36 / М.И. Заславская; Московский науч. – исслед. ин-т эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского – М., 2009. – 46 с.

57. Захарова Н.М. Применение ксенона, иммобилизованного в носителе для повышения резистентности организма к гипоксии / Н.М.Захарова и др.// Патент РФ №2696100 заявл. 02.04.2018/опубл. 31.07.2019. – Бюл. №22

58. Зверев В.В. Концепция создания быстрой иммунологической защиты от патогенов / В.В. Зверев, Б.Ф. Семенов // Журнал Микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2007. – № 4. – С.93-100.

59. Земляной, А.В. Адаптационно-метаболический и токсический эффект сигнальных редокс-молекул: оксида углерода, оксида азота и перекиси водорода / А.В. Земляной, А.Н. Полежаев, С.Б. Оникиенко // Тез. Всеарм. научн. конф. Актуальные вопросы военно-полевой терапии 15-17 мая 1997 г. – СПб., 1997. – С. 46–50.

60. Зординова К.А. Современная диагностика и терапия острого респираторного дистресс-синдрома у взрослых / К.А. Зординова и др. // Вестник Казахского Национального медицинского университета 2017. – N 2. – с.: 31-37

61. Иванова, И.П. Бицидный эффект некогерентного импульсного излучения искрового разряда в экспериментах *in vitro* и *in vivo* / И.П. Иванова, М.И. Заславская // Современные технологии в медицине. – 2009. – №1. – С.28-31
62. Ильин, Л.А. Противолучевые средства в системе радиационной защиты персонала и населения при радиационных авариях / Л.А. Ильин, И.Б. Ушаков, М.В. Васин // Мед. радиол. и радиац. безопасность. – 2012. – № 3. – С.26-31.
63. Иммуногенные свойства рекомбинантных белков, включающих эктодомен белка М2 вируса гриппа / Л.А. Степанова [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2013. – №3. – С. 21-25.
64. Иммуномодулирующие эффекты внеклеточной формы БТШ70 / А.М. Сапожников [и др.] // Мат. IV Российского симпозиума Белки и пептиды. – Казань, 2009. – С . 117-119.
65. Исхаков М.Н. Особенности течения и лечебной тактики при язвенной болезни у работников нефтеперерабатывающей промышленности : Автореф. дисс. ... канд. мед. наук / М.Н. Исхаков. – Казань, 1996. – 19 с.
66. Йонехиро Г., Маквитт Т. Дж. Способ лечения индуцированной радиацией нейтропении путем введения множественно конъюгированного с полиэтиленгликолем варианта гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) / Патент РФ № 2011115187. – заявл. 18.09.2009 / опубл. 27.10.2012. – Бюл. №16
67. Калинин, А.А. Особенность распространения хронических заболеваний печени среди населения республики Беларусь, пострадавшего от катастрофы на Чернобыльской АЭС / А.А. Калинин, С.В. Жаворонков, С.И. Антипова // Росс. журнал гастроэнтер. гепатол. колопроктол. – 2000. – Т.10, №2. – С.45-48.
68. Калюкина, А. С. Изучение возможности применения рекомбинантного белка Hsp70 туберкулезной микобактерии в профилактике туберкулеза : автореф. дисс. ... канд. биол. наук / А. С. Калюкина. – М., 2007. – 26 с.

69. Каральник, Б.В. Экологические аспекты АКДС-вакцинации / Б.В. Каральник, С.Г. Маркова // ЖМЭИ. – 1991. – № 12. – С. 34-38.
70. Каркищенко Н.Н. Средство для стимуляции работы в экстремальных условиях, способ его получения и применения / Патент РФ № 2503459 . – заявл. 22.03.2012 / опубл. 10.01.2014. – Бюл. №1
71. Кириленко Ю.К. [и др.] Способ получения смеси глюкозамина, олигосахаридов хитозана и низкомолекулярного хитозана /Патент РФ № 2259783 . – заявл. 11.12.2003 / опубл. 10.09.2005. – Бюл. №25
72. Кишечный эндотоксин как универсальный фактор адаптации и патогенеза общего адаптационного синдрома / Аниховская И.А. [и др.] // Физиология человека. – 2006. – Т. 32, № 2. – С. 91-96.
73. Клинико-эпидемиологическое изучение изменений желудочно-кишечного тракта и тканевого метаболизма, возникающих под влиянием неблагоприятных эколого-профессиональных факторов и разработка методов их профилактики и коррекции в войсках : отчет НИР / ВМедА. – СПб, 1999. – 256 с.
74. Козлов Д.Г. [и др.] Способ получения белка E7-Hsp70 и штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* для его осуществления / Патент РФ №2489481. – заявл. 16.01.2012/ опубл. 10.08.2013. – Бюл. № 22
75. Колесников, А.П. Диагностика и дифференцированное лечение нарушений в иммунной системе при иммунопатологических заболеваниях : автореф. дис. ... докт. мед. наук / А.П. Колесников. – Новосибирск, 2000. – 64с.
76. Колобов, А.А. Структурно-функциональная организация, механизм действия и иммунобиологические свойства γ -D-глутамил-L-триптофана (Бестима) : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / А.А. Колобов. – СПб., 2008. – 40 с.
77. Комаревцев, В.Н. Клинико-патофизиологические закономерности нарушений здоровья в условиях воздействия экстремальных факторов окру-

жающей среды : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / В. Н. Комаревцев. – СПб., 2000. – 36 с.

78. Конев Ю.В., Яковлев М.Ю., Аниховская И.А. Способ профилактики и лечения гиперэндотоксинемии / Патент РФ 99106170 . – заявл. 30.03.1999 / опубл. 10.01.2001. – Бюл. №1

79. Коррекция индуцированной цитостатиками иммуносупрессии у мышей с помощью стафилококковой вакцины / Н.К. Ахматова [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2009. – № 1 – С.46-52.

80. Коррекция индуцированной цитостатиком иммуносупрессии у мышей с помощью стафилококковой вакцины / Ф.В. Доненко [и др.] // Журнал Микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2009. – № 1. – С.46-52.

81. Косякова, Н.И. Здоровье и система экологической иммунореабилитации городского населения / Н.И. Косякова. – Пушкино, ОНТИ ПНЦ РАН, 1997. – 140 с.

82. Кочетыгов Н.И. Влияние регуляторов синтеза оксида азота на гемодинамику при геморрагическом шоке в эксперименте/ Н.И. Кочетыгов, М.И. Ремизова, К.А. Гербут, Г.В. Гришина// Мед. Академ, журнал. - 2003. -№.3, прил 4 - С.; 133-134.

83. Крапивкин, Б.А. Разработка двухуровневой системы контроля полихлорированных бифенилов в кормах и пищевом сырье : дис. ... канд. вет. наук / Б.А. Крапивкин – М., 2007. – 207 с.

84. Красикова, И. Н. Липиды некоторых наземных и морских грамотрицательных бактерий как факторы патогенности и потенциальные антагонисты эндотоксинов : автореф. дис. ... д-ра хим. наук / И. Н. Красикова – Владивосток, 2009. – 51 с.

85. Кулинский, В.И. Две адаптационные стратегии в неблагоприятных условиях – резистентная и толерантная / В.И. Кулинский, И.А. Ольховский // Успехи современ. биол. – 1992. – Т. 112, № 5-6. – С.697-714.

86. Кустанова, Г. А. Защитное действие экзогенного белка теплового шока 70 кДа при эндотоксическом шоке (сепсисе) / Г. А. Кустанова [и др.] // Доклады Академии наук. – 2006.–Т. 411, № 5. – С. 711-715.
87. Кушнерова, Н.Ф. Перспективные разработки комплексов биологически активных веществ из природного сырья Дальневосточного региона / Н.Ф. Кушнерова, Ю.И. Добряков, В.Г. Спрыгин // Вестник ДВО РАН. – 2003. – Т.108, №2. – С. 66-72.
88. Лазарев, Н.В. Состояние неспецифически повышенной сопротивляемости / Н.В. Лазарев, Е.И. Люблина, М.А. Розий // Пат. физиол. и эксперим. терапия. – 1959. – Т.3, № 4. – С.16-21.
89. Лазарев В.Ф. Испытание нового индуктора белков теплового шока в клеточной модели реакции на черепномозговую травму / В.Ф. Лазарев и др. // Цитология 2019.-т.61.-№9.-С.:713-718
90. Лебедев, К.А. Иммунология образраспознающих рецепторов (интегральная иммунология) / К.А. Лебедев, И.Д. Понякина – М. : Книжный дом ЛИБРО-КОМ, 2009. – 256 с.
91. Лесиовская, Е.Е. Повышение индивидуальной устойчивости организма к комплексу экстремальных воздействий с помощью новых фармакологических средств : автореф. дис. ... докт. мед. наук : 14.00.25 / Е.Е. Лесиовская. – СПб., 1993. – 48 с.
92. Липополисахарид из *Rhodobacter capsulatus* подавляет действие эндотоксина из разных хемотипов *E. coli* на праймирование и апоптоз нейрофилов человека / М.Г. Винокуров [и др.] // Доклады Академии Наук. – 2009. – Т. 424, № 4 . – С. 548-550
93. Лихванцев В.В. Ишемическое и фармакологическое прекондиционирование / В.В. Лихванцев, В.В. Мороз, О.А. Гребенников // Общая Реаниматол. – 2012. – №1. – С. 61-66.
94. Лобзин Ю.В. [и др.]. Способ повышения эффективности вакцинаций против бактериальных и вирусных инфекций / Патент РФ №2342174. заявл. 13.02.2006 / опубл. 27.12.2008. – Бюл. № 36

95. Логинов Л. С. Эффективность лечения длительно не заживающих язв желудка лазером на парах меди / Л. С. Логинов, Н. Г. Басов, В. Р. Амбарцумян // Терап. Арх. – 1989. – №2. – С. 42-46.
96. Лоторева Ю.А. Состояние иммунитета у лиц, проживающих в экологически неблагоприятном регионе : автореф. дис. канд. мед. наук / Ю.А. Лоторева. – Алматы, 2010. – 25 с.
97. Магомедов, К.К. Коррекция перфтораном структурно-функционального гомеостаза при синдроме длительного сдавления : автореф. дис. ... канд. биол. наук / К.К. Магомедов. – Ростов-на-Дону, 2004. – 24 с.
98. Малахова, М. Я. Метод регистрации эндогенной интоксикации / М. Я. Малахова. – СПб.: Пособие для врачей, 1995. – 35 с.
99. Малов, Ю.С. Некоторые аспекты этиологии и патогенеза язвенной болезни / Ю.С. Малов // Клин. мед. – 1993. – № 1. – С. 55-60.
100. Малов, Ю.С. Параметры гомеостаза- показатели здоровья человека / Ю.С. Малов // Клин. мед. – 1999. – № 3. – С.56-60.
101. Манских В.Н. Пути гибели клеток и их биологическое значение / В.Н. Манских // Цитология. – 2007– Т.49, № 11. – С. 909-915.
102. Маргулис Б.А. Кинетика изменения шаперонной активности белков Hsp70 в U-937-клетках после теплового или лекарственного прекоиндиционирования / Б.А.Маргулис [и др.] // Биохимия. – 2011. – Т.76, № 5. – С.724-730.
103. Марышева В.В. Защитное действие производных тиазоло[5,4-b] индола при токсическом отеке легкого / В.В. Марышева, П.А. Торкунов, П.Д. Шабанов // Бюлл. эксперим. биол. мед. – 2006. – №4. – С.418-421.
104. Масыгутова Л.М. [и др.] Способ повышения физической работоспособности здорового человека / Патент РФ №2294753. – заявл. 18.07.2005/ опубл. 10.03.2007. – Бюл. № 7
105. Математические модели прогнозирования токсичности современных пестицидов для зоопланктонных организмов / И.Л. Левина [и др.] // X

съезда Гидробиологического общества при РАН г.Владивосток, 28 сент.-2 окт. 2009 г. : тез. докл. – Владивосток, 2009. – С. 232.

106. Матюшичев В.Б. Высокоэнергетическая терапия язв желудка / В.Б. Матюшичев, А.И. Солдатов, Е.Л. Линкевич // Клин. мед. –1997. –Т.75, № 12. – С. 41-44.

107. Махлай А.А. Получение рекомбинантного белка теплового шока 70 кДа человека в бакуловирусной системе экспрессии и оценка его противовирусной активности / А.А. Махлай и др. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2011.-N 1.-С.:54-60

108. Мациевский Д.Д. Индивидуальная устойчивость к острой кровопотере - реальность и проблемы / Д.Д. Мациевский, Н.Я. Коваленко // Патогенез. – 2004. – № 2. – С. 53-66.

109. Маянский, А. Н. Поздний цитокин HMGB1: медиаторные функции и перспективы: обзор / А.Н. Маянский, Н.А. Маянский // Иммунология. – 2009. – Т. 30, № 4. – С. 232-237.

110. Медуницын, Н.В. Вакцинология / Н.В. Медуницын. – М.: Триада-Х, 1999. – 272 с.

111. Меерсон, Ф.З. Адаптационная медицина: Защитные перекрестные эффекты адаптации / Ф.З. Меерсон . – М., 1993. – 421 с.

112. Мерабишвили В. М. Онкологическая служба в Санкт-Петербурге и районах города в 2009 году. / В. М. Мерабишвили, Ю.А. Щербук // Ежегодник популяционного ракового регистра. – СПб., 2010. – №16. – 223с.

113. Механизмы действия противорадиационной вакцины по защите от биологического воздействия радиации в высоких дозах и мощности при облучении с низкой линейной передачей энергии / В. Малиев [и др.] // Радиационная Биол.Радиоэкол. – 2007. –Т.47, № 3. – С. 286-291.

114. Михалев Е.Н. Иммунный статус больных язвенной болезнью и влияние на него современной противоязвенной фармакотерапии и иммуномодулирующих средств : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е.Н. Михалев. – Пермь, 2001. – 24 с.

115. Модифицированный нейропептид FF в терапии геморрагического шока / В.Л. Лакомкин [и др.] // Кардиологич. Вестник 2010. – т.5. – №2(17). – с.: 36-39
116. Мокеева Е.Г. Механизмы формирования иммунных дисфункции и пути их профилактики у высококвалифицированных спортсменов / Е.Г. Мокеева, И.Н Савельева // Ученые записки Университета им. Лесгафта. – 2011. – №8 (78). – С.132-135.
117. Мухаметшин И.И. Изыскание средств для профилактики радиационных поражений животных : автореф. дис. .. канд. биол. наук: / И.И. Мухаметшин. – Казань, 2002. – 22 с.
118. Начарова Е. П. Характеристика изменений иммунной системы у лиц, работающих в условиях воздействия комплекса промышленных токсичных отходов : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.36 / Е. П. Начарова. – СПб., 2006. – 209 с.
119. Недоспасов С. А. Врожденный иммунитет и его механизмы / С.А Недоспасов. – М.: Науч. Мир, 2012. – 98 с.
120. Недоспасов С.А. Медиаторы врожденного иммунитета / С.А. Недоспасов // Материалы IV Российского симпозиума Белки и пептиды, Казань, 25-27 июня 2009. – Казань, 2009 – С. 99-100.
121. Никифоров А.М. Клинические проявления воздействия факторов крупномасштабной радиационной катастрофы : дис. ... д-ра мед. наук / А.М. Никифоров. – СПб., 1994. – 448 с.
122. Новиков В. С. Коррекция функциональных состояний при экстремальных воздействиях / В. С. Новиков, Е. Б. Шустов, В. В. Горанчук. – СПб.: Наука, 1998. –390 с.
123. Новые соединения, повышающие экспрессию шаперона HSP70, и их биологическую активность / Е.М. Еременко [и др.] // Цитология. – 2010. – Т. 52, № 3. – С. 235–241.
124. Новый ингибитор рецепторов PD-1 и Tim-3 и его комбинация с лучевой терапией повышают эффективность иммунотерапии рака /

С.Б.Оникиенко [и др.] // Успехи молекулярной онкологии– 2016. – Т.3. – №4. – С.79.

125. Особенности течения шока при синдроме длительного раздавливания у крыс с разной устойчивостью к шокогенной травме / Г.А. Чернышева [и др.] // Бюлл. эксперим. биол. мед. – 2001. – №10. – С. 390-393.

126. Остров, В. Ф. Влияние экзогенного белка теплового шока 70 кДа на развитие грамположительного сепсиса у крыс / В. Ф. Остров, М. Б. Евгеньев, А. Н. Мурашов // Доклады Российской Академии Наук. – 2011. – Т. 437, №1. – С. 132-135.

127. Остров В. Ф. Изучение защитного действия рекомбинантного БТШ70 при внутривенном введении крысам с эндотоксиновым шоком / В. Ф. Остров, М. Б. Евгеньев, А. Н. Мурашев // Клинич. фармакол. терапии. – 2009. – №6. – С. 284-285.

128. Панова Н.Е. [и др.]. Способ повышения эффективности вакцинации лошадей / Патент РФ №247633. – заявл. 29.02.2012 / опубл. 27.02.2013. – Бюл. № 6

129. Парин, С.Б. Роль эндогенной опиоидной системы в формировании экстремальных состояний : автореф. дис. ... д-ра биол. наук / С.Б. Парин. – М., 2010. – 49 с.

130. Пастухов, Ю.Ф. Молекулярные, клеточные и системные механизмы протективной функции белков теплового шока 70 кДа / Ю.Ф. Пастухов, И.В. Екимова // Нейронауки. – 2005. –Т.2, – №2. – С. 3-22.

131. Пигаревский П.В, Нагорнев В.А, Загольская В.Н. Способ одновременного определения лизосомальных катионных белков гранулоцитов и ДНК, РНК лимфоцитов на одном препарате в тканях/ Патент РФ №2180104 . – заявл. 10.07.200 /опубл. 27.02.2002. – Бюл. №6

132. Патогенетическая оценка иммунотерапии при хроническом гастрите и язве желудка / В.М. Арутюнян [и др.] // Клиническая Медицина. – 2000. – Т. 78, № 2. – С. 52-54.

133. Перспективы применения искусственной гибернации в медицине экстремальных ситуаций / А.С. Самойлов [и др.] // Медицина экстремальных ситуаций 2017. – т. 59. – №1. – с.:78-88
134. Перспективные направления использования препаратов на основе рекомбинантного флагеллина / Сафронов Г.А. [и др.] // Медицинский академический журнал. 2017. – т. 17. – № 2. – с. 7-20
135. Петров В.А. и др. Способ длительного поддержания жизнеспособности человека в полевых условиях при ранениях с большой кровопотерей и устройство для его осуществления.- Патент РФ №2684748. – заявл. 16.03.2017/опубл.12.04.2019. –Бюл. №11
136. Повышение иммуногенной активности вакцины Инфлювак при использовании адъювантных ТИ-комплексов, модифицированных этинохромом А / А.В. Цибульский [и др.] // Вопр. Вирусол. – 2012. – № 2. – С. 23-27.
137. Помыткина Т. Е. Особенности течения язвенной болезни у работников производства соединений группы азота : автореф. дисс. ... д-ра мед. наук / Т. Е. Помыткина. – Барнаул, 2011. – 46с.
138. Пребиотики в лечении заболеваний внутренних органов / В.Б. Гриневич [и др.] // Рос. мед. журнал. –2003. – № 5. – С. 43-50.
139. Преображенский В.Н. Высокоинтенсивное лазерное излучение в лечении больных с длительно не заживающими язвами желудка / В.Н. Преображенский, И.Л. Остапенко, В.Л. Бажанов // Клинич. мед. – 1991. –Т. 69, № 8 – С. 73-75.
140. Применение БТШ в качестве стресс-маркера у беспозвоночных при индикации нефтяного загрязнения в водоемах Восточной Сибири / Д. В. Лозовой [и др.] // Материалы X съезда Гидробиологического общества при РАН, г.Влади-восток 28 сент.- 2окт. 2009 г. : тез. докл. – Владивосток, 2009. – С.239-240.

141. Пугач В.А. Биомаркеры острого респираторного дистресс-синдрома: проблемы и перспективы их применения / В.А. Пугач и др. // Вестник анестезиологии и реаниматологии. 2019. – т. 16. – N 4. – с.:38-46.
142. Равилов А.З. [и др.]. Способ специфической профилактики радиационных поражений организма и способ получения препарата для профилактики радиационных поражений организма/ Патент РФ №2226106. – заявл. 20.09.2001/ опубл. 27.03.2004. – Бюл. №9
143. Радиобиология, радиационная физиология и медицина: словарь-справочник /В.И.Легеза, И.Б.Ушаков, А.Н. Гребенюк, А.Е. Антушевич.- СПб.: Фолиант. – 2017. – 176 С.
144. Радиозащитные свойства производных изотиомочевины с NO-ингибирующим механизмом действия / М.В. Филимонова [и др.] // Радиационная Биология. Радиационная Экология. – 2012. – № 6. – С. 593-601.
145. Рекевег Г.Г. К вопросу об определении заболевания / Г.Г. Рекевег // Биологическая медицина. – 2008. – №2. – С.4-5.
146. Рекомбинантный белок теплового шока (rHsp70) усиливает активацию врожденного и адаптивного иммунитета при совместном введении с бактериальными антигенами в эксперименте / Н Б Егорова [и др.] // Журн. Микробиол. Эпидемиол. Иммунобиол. – 2009. – № 1. – С. 42 - 46.
147. Ремизова М.И. Регуляция кровообращения селективными ингибиторами синтеза оксида азота при геморрагическом шоке в эксперименте / М.И. Ремизова и др. // Мед. академ. журн. 2010. – т. 10. – N 1. – с.:57-63
148. Рождественский Л.М. Средства противолучевой защиты и терапии: современное состояние и перспективы / Л.М. Рождественский // Мед. Радиол. Радиационная Безопасность. – 2012. – №5. – С.72-82.
149. Роль белка теплового шока Hsp90 в формировании защитных ответов при остром токсическом стрессе / О.В. Глушкова [и др.] // Биохимия. – 2010. – Т. 75. – № 6. – С. 789-795.

150. Росстальная А.Л. Острое повреждение легких: спорные вопросы и нерешенные проблемы / А.Л. Росстальная и др. // Журнал им. Н.В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь». 2016. – N 3. – С.: 66-72.
151. Роцкая У.Н. Зависимость цитотоксичности и антиокислительной активности аммониевых производных алкилфенолов от особенностей их структуры / У. Н. Роцкая , Л.П. Овчинникова, Е.А. Васюнина // Биоорганическая химия. – 2010. – Т.36. – № 4. – С. 563-569.
152. Рюменская, В.А. Иммунокоррекция лейкоинфероном в лечении язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки : автореф. дис. ... канд. мед. наук / В.А. Рюменская. – Краснодар, 2000. – 23с.
153. Савинов М.Ю., Колпаков М.Ю. Фармацевтический препарат и способ его получения.- Патент РФ №2681848, заявл. 14.07.2017/ опубл. 15.01.2019. Бюл. № 2.
154. Сазонтова Т.Г. Мембранная адаптация при развитии резистентности к факторам внешней среды : автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Т.Г. Сазонтова. – М., 1998. – 49 с.
155. Саидов М.З. Патогенетическая оценка иммунологической реактивности при синдроме длительного сдавления / М.З. Саидов и др. // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2017. – Т. 61. – № 1. – С. 65-71.
156. Самойлов А.С. Перспективы применения искусственной гибернации в медицине экстремальных ситуаций / А.С. Самойлов и др. // Медицина экстремальных ситуаций 2017. – Т. 59. – № 1. – с.: 78-88
157. Сафронова, Т.М. Способ обезжиривания рыбных продуктов / Т.М. Сафронова, В.Д. Богданов, А.В. Перебенос // Изобретения. – 1998. –№ 8, ч.II. – С. 533-534.
158. Сашко А.А. Синдром длительного сдавления (crush-синдром) /А.А.Сашко, Е.А.Лейб, О.А.Базалий // Алея Науки, Кемерово 2019. –Т.5. – №1(28). – С.: 17-20

159. Светогидравлический эффект (Открытие № 65) / А.М. Прохоров: Бюл. изобр. - 1969. – № 19.
160. Семенов Б.Ф. Новый класс вакцин – активаторы врожденного иммунитета / Б.Ф. Семенов, В.В. Зверев, М.А. Пальцев // Материалы Российского Медицинского Форума. – М., 2007. – С. 112.
161. Семенов Б. Ф. Перспективы создания вакцин для быстрой защиты от новых патогенов и одновременной защиты от патогенов разных токсонических групп / Б.Ф. Семенов, В.В. Зверев, М.А. Пальцев // Российский Медицинский Форум. – 2007. – № 3. – С.14-19.
162. Семенов Б.Ф. Активация врожденного иммунитета как способ создания защиты против широкого круга патогенов / Б.Ф. Семенов, В.В. Зверев, М.А. Пальцев // Матер. междунар. мед. форума Индустрия здоровья. – М., 2010. – С.128.
163. Серебряный А. М. Радиационный адаптивный ответ как стресс-реакция клетки / А. М. Серебряный // Радиационная биология, радиоэкология. – 2011. – Т. 51. – № 4. – С. 399-404.
164. Сидорин Г.И. Адаптация как основа защиты организма от вредного действия химических веществ / Г.И. Сидорин, Л.В. Луковникова, А.Д. Фролова // Рос. Хим. Журн. – 2004. – Т. 48, №2. – С. 44-50.
165. Система глутатиона эритроцитов и плазмы при язвенной болезни / В.И. Кулинский [и др.] // Биомедицинская химия. – 2008. – № 5. – С. 607-613.
166. Сметанников В.П. [и др.] Способ повышения работоспособности / Патент РФ № 2235563. – заявл. 05.06.2003/ опубл. 10.04.2004. – Бюл. № 25
167. Совершенствование научных основ профилактики заболеваемости, обусловленной химическими нагрузками малой интенсивности / Н.Н. Литвинов // Материалы II съезда токсикологов России : тез.докл. –М., 2003. – С.: 159-160.

168. Соколова Г.Н. Механизмы биологического действия лазера на парах меди при длительно незаживающих язвах желудка : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Г.Н. Соколова – М., 1992. – 46 с.
169. Соотношение адаптивных и патологических процессов у гидробионтов при интоксикации азоловыми пестицидами / И.Л. Левина [и др.] // Матер. X съезда Гидробиологического общества при РАН г. Владивосток, 28 сент. - 2 окт. 2009 г. : тез. докл. – Владивосток, 2009 – С. 231.
170. Способ выведения бензола и его производных из организма человека / Н.В. Зайцева [и др.] // Изобретения. – 1998. – № 8, ч. II. – С. 317.
171. Сравнение нейропротективного действия гипоксического посткондиционирования и церебролизина / Е.А. Рыбникова [и др.] // Журн. неврол. психиатр. им. С.С. Корсакова. – 2013. – № 2. – С.: 54-58.
172. Стрессовые белки бактерий при болезнях человека / И.А. Баснакьян [и др.] // Иммунология. – 2010. – № 7. – С. 304-310
173. Стрессовые ответы химических токсинов в низких концентрациях / С.Б. Парфенюк [и др.] // Биофизика. – 2010. – Т.55, № 2. – С. 375-382.
174. Судаков С.К. Средство для профилактики и лечения опийной наркомании / Патент РФ № 2264228. – заявл. 10.22.2002/опубл. 04.27.2004. – Бюл. № 32
175. Суздальницкий Р.С. Новые подходы к пониманию спортивных стрессорных иммунодефицитов / Р.С. Суздальницкий, В.А. Левандо // Теория и практика физической культуры. 2003. – №1. –С.: 18-22.
176. Тимошевский, А.А. Клинико-экспериментальное обоснование применения интерлейкина 1-β для профилактики и терапии поражений при радиационных авариях : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / А.А. Тимошевский. – СПб., 2009. – 45 с.
177. Тиунов, Л.А. Биохимические механизмы адаптации и компенсации нарушенных функций при действии на организм химических веществ / Л.А. Тиунов // Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций. – М., 1987. – С. 366-380.

178. Тишук Е.А. Современное состояние и особенности заболеваемости населения Российской Федерации / Е.А. Тишук // Профилактика заболеваний и укрепление здоровья. – 2009. – № 1. – С. 3-13.
179. Торкунов П.А. Применение ингибиторов NO-синтазы, производных L-аргинина для предотвращения экспериментального токсического отека легких / П.А. Торкунов, П.Д. Шабанов // Эксперим. клинич. фармакол. – 2009. – № 2. – С. 44-46.
180. Торкунов П.А. Фармакологическая коррекция токсического отека легких : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / П.А. Торкунов. – СПб., 2007. – 52 с.
181. Тутельян, В.А. Флавоноиды и ресвератрол как регуляторы активности Ah рецептора: защита от токсичности диоксина / В.А. Тутельян, М.Н. Гаппаров, Л.Ю. Телегин // Бюлл. эксперим. биол. мед. – 2003. – Т.136, №12. – С.609-611.
182. Удовиченко В.И. Экспериментальная разработка комплексной патогенетической терапии шока: Автореф.... дис. док. мед. наук/ В.И.Удовиченко. М. – 1993г. – 76 С.
183. Федосеева Е.В. Токсикорезистентность байкальских и общесибирских амфипод к некоторым редокс-активным соединениям / Е.В. Федосеева, Д.И. Стом, В.А. Терехова // Тез. докл. X съезда гидробиол. общества РАН. –Владивосток, 2009. – С.: 415-416.
184. Федюкович Л.В. Метод определения мембранотоксических свойств ксенобиотиков / Л.В. Федюкович, А.В. Егорова, В.В. Иванов // Изобретения. –1997. – № 4. – С. : 259-267.
185. Фортов, В.Е. Сохранить фундамент оборонной науки / В.Е. Фортов, И.А. Каляев // Национальная оборона. – 2010. – № 5. –С. 9-14.
186. Хасина Э.И. Антиоксидантная активность низкоэстерифицированного пектина из морской травы *Zostera marina* / Э.И. Хасина, Е.А. Коленченко, М.Н. Сгребнева // Биология моря. – 2003. – Т.29. – № 4. – С.: 291-293.

187. Целикман, В.Э. Изменения стрессорной реактивности системы крови при переходе к толерантной стратегии адаптации : Автореф. дис. ... д-ра мед. наук / В.Э. Целикман. – М., 1998. – 47с.
188. Чазов Е.И. и др. Средство для повышения выживаемости при кровопотере.- Патент РФ №2403901, заявл. 29.04.2009 / опубл. 20.11.2010. –Бюл. № 32.
189. Чейда А.А. Способ лечения язвенной болезни желудка /Патент РФ №2234956. – заявл. 2002.07.19/ опубл. 2004.08.27. – Бюл. № 24
190. Черешнев В.А. [и др.]. Способ лечения иммунодефицитных состояний / Патент РФ №2179855. – заявл. 17.07.2000/ опубл. 27.02.2002. – Бюл. №6
191. Черешнев В.А. Иммунологические и патофизиологические механизмы системного воспаления / В.А.Черешнев, Е. Ю. Гусев // Медицинская иммунология 2012. – т 14. – № 1-2. – С.: 9-20
192. Чернин, В.В. Спорные вопросы роли гистамина в ульцерогенезе / В.В. Чернин, В.Н. Быстров // Вопросы практической гастроэнтерологии. – М., 1981. – №3. – С.136-137.
193. Шестаков В.А., Решетников Е.В. Фармацевтическая композиция и способ получения противовирусных фракций (антивирус-с) // Патент РФ № 2526799. – Заявл. 06.09.2012 / Опубл. 27.08.2014. – Бюл.№16
194. Шкурников, М. Ю. Влияние нагрузок различной интенсивности на концентрацию белка теплового шока с молекулярной массой 70 кДа : Дис. ... канд. мед. наук / М. Ю. Шкурников. – М., 2009. – 117 с.
195. Шустов, Е.Б. Повышение устойчивости к экстремальным воздействиям при астении : Автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Е.Б. Шустов. – СПб., 1996. – 38с.
196. Щербак С.Г. Клинико-морфологическая характеристика предопухолевых состояний желудка у больных с хроническими гастродуоденальными заболеваниями и при воздействии мутагенных факторов : Автореф. дис. ... д-ра мед. наук / С.Г. Щербак. – СПб., 2002. – 49 с.

197. Экзогенные белки теплового шока БТШ70 подавляют эндотоксин-индуцированную активацию нейтрофилов человека / Юринская М.М. [и др.] // Докл. Росс. Акад. Наук. – 2009. – Т. 493. – № 3. – С.: 406-409.
198. Явление исчезновения иммуноглобулинов в организме человека (Открытие № 345) / Б. Б. Першин [и др.] : Гос. Реестр Открытий СССР - 1981.
199. Язенок А.В. Данные стационарного обследования персонала объектов хранения и уничтожения химического оружия / А.В. Язенок, А.Е. Сосюкин // Воен.-Мед. Журн. – 2008. – №10. – С.: 55-56.
200. Яковлев М.Ю. Эндотоксиновая агрессия как предболезнь или универсальный фактор патогенеза заболеваний человека и животных / М.Ю. Яковлев // Успехи Современ. Биол. – 2003. – Т.123. – № 1. – С.: 31-40.
201. A critical role of toll-like receptor 4 (TLR4) and its' in vivo ligands in basal radioresistance [Электронный ресурс] /C. Liu [et al.] // Cell Death Dis. – 2013. – Vol. 4. – Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23722538>.
202. α -Lactose improves the survival of septic mice by blockade of TIM-3 signaling to prevent NKT cell apoptosis and attenuate cytokine storm / Yao Y, [et al.] // Shock. 2017. – v. 47. – № 3. – P.: 337-345.
203. A novel hepatitis B vaccine containing Advax™, a polysaccharide adjuvant derived from delta inulin, induces robust humoral and cellular immunity with minimal reactogenicity in preclinical testing / F. Saade [et al.] // Vaccine. – 2013. – Vol. 31, № 15. – P.: 1999-2007.
204. A novel laser vaccine adjuvant increases the motility of antigen presenting cells [Электронный ресурс] / X. Chen [et al.]//PLoS One.–2010.–Vol. 5, № 10. - Режим доступа: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0013776>.
205. A possible explanation for the molecular mechanisms that underlie the benefits of mild stress / FA Wiegant [et al.] // Dose Response. – 2012. – Vol. 11, № 3. – p.: 413-430.
206. A systematic screen of FDA-approved drugs for inhibitors of biological threat agents [Электронный ресурс] /P.B. Madrid [et al.] // PLoS One.–2013. –

Vol. 8, № 4. – Режим доступа: <http://www.plosone.org/article/ifo%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0060579>.

207. Absorbable nutritional supplement for optimising resistance of organisms to effects of urban pollution : FR Demande FR 2704397 / J.P. Curtay [et al.] ; filed 23.04.1993 ; publ. 04.11.1994 , 11 p.

208. Accelerated internalization and detoxification of endotoxin by antilipoplysaccharide antibody is an Fc receptor--mediated process / V. Lazaron [et al.] // *Surgery*. – 2001. – Vol. 130, № 2. – P.: 192-197.

209. Accelerated vaccine development against emerging infectious diseases / P.R. Leblanc [et al.]. // *Hum. Vaccin. Immunother.* – 2012. – Vol. 8, № 7. – P.: 1010-1012.

210. Accidental inhalation injury of phosgene gas leading to acute respiratory distress syndrome / A. Kumar [et al.] // *Indian J. Occup. Environ. Med.* – 2012. – Vol. 16. – № 2. – P.: 88-89.

211. Activation of HSPA1A promoter by environmental pollutants: An early and rapid response to cellular damage / Xin L. [et al.] // *Environ Toxicol Pharmacol.* 2015. – v. 39. – № 3. – P.: 1027-1033

212. Active immunity induced by passive IgG post-exposure protection against ricin / C.C. Hu [et al.] // *Toxins (Basel)*. – 2014. – Vol.6, №1. – P. 380-393.

213. Active immunization with a detoxified endotoxin vaccine protects against lethal polymicrobial sepsis: its use with CpG adjuvant and potential mechanisms / S.M. Opal [et al.] // *J Infect Dis.* – 2005. – Vol. 192, № 12. – P. 2074-2080.

214. Acute lethal crush-injured rats can be successfully rescued by a single injection of high-dose dexamethasone through a pathway involving PI3K-Akt-eNOS signaling / I. Murata [et al.] // *J. Trauma Acute Care Surg.* 2013. – Vol. 75– № 2. – P. : 241 -249.

215. Acute metabolic responses to a 24-h ultra-marathon race in male amateur runners / Z. Waśkiewicz [et al.] // *Eur. J. Appl. Physiol.* – 2012. – Vol. 112. – № 5. – P. : 1679-1688.

216. Acute stress exposure prior to influenza vaccination enhances antibody response in women / K.M. Edwards [et al.] // *Brain Behav Immun.* – 2006. – Vol. 20.: №2. – P. 209-217.
217. Acute stress-induced colonic tissue HSP70 expression requires commensal bacterial components and intrinsic glucocorticoid / K. Matsuo [et al.] // *Brain Behav. Immun.* – 2009. – Vol. 23, № 1. – P. 108-115.
218. Adaptogens exert a stress-protective effect by modulation of expression of molecular chaperones / A. Panossian [et al.] // *Phytomedicine.* – 2009. – Vol. 16, № 6-7. – P. 617-622.
219. Adjuvant effect of bacterial outer membrane vesicles with pentaacylated lipopolysaccharide on antigen-specific T cell priming / D.H. Lee [et al.] // *Vaccine.* – 2011. – Vol. 29, № 46. – p.: 8293-8301.
220. Adjuvant solution for pandemic influenza vaccine production / C.H. Clegg [et al.] // *Proc. Natl Acad. Sci.* – 2012. – Vol. 109, № 43. – P. 17585-17590.
221. Adjuvant-free immunization with hemagglutinin-Fc fusion proteins as an approach to influenza vaccines / S. Loureiro [et al.] // *J Virol.* – 2011. – Vol. 85, № 6. – P.: 3010-3014.
222. Adjuvanticity and toxicity of cobalt oxide nanoparticles as an alternative vaccine adjuvant / W.S. Cho [et al.] // *Nanomedicine (Lond.).* – 2012. – Vol. 7, № 10. – P.: 1495-1505.
223. Alexopoulos N. Clade X pandemic exercise highlights policies needed to prevent or reduce the worst possible outcomes in future pandemics / N. Alexopoulos // *Chemical Biological Radiologic Nuclear and Environmental (CBRNE) Diary* . – 2018. – №8. – P.: 76-77.
224. Altura B.M. HDFx: a novel biologic immunomodulator accelerates wound healing and is suggestive of unique regenerative powers: potential implications for the war fighter and disaster victims / B.M. Altura, A. Carella, A. Gebrewold // *Int. J. Clin. Experim. Med.* - 2012. – Vol. 5, № 4. – P. 289-295.

225. Amelioration of endotoxin-induced uveitis treated with the sea urchin pigment echinochrome in rats / A. Lennikov [et al.] // *Mol Vis.* – 2014. – Vol. 20. – № 2. – P. : 171-177.
226. Amini P. Mechanisms for radioprotection by melatonin; can it be used as radiation countermeasure? / P. Amini [et al.] // *Curr.Mol. Pharmacol.* 2019. – vol.12. – P. : 2-12
227. Analysis of binding site for the novel small-molecule TLR4 signal transduction inhibitor TAK-242 and its therapeutic effect on mouse sepsis model / K. Takashima [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 2009. – Vol.157. – №7. – P.: 1250-1262.
228. Antibodies for biodefense / J.W. Froude [et al.] // *MAbs.* – 2011. – Vol. 3. – №6 – P.: 517-527.
229. Antifatigue activity of the liposoluble fraction from *Acanthopanax senticosus* / L.Z. Huang [et al.] // *Phytother. Res.* – 2011. – Vol. 25. – № 6. – P.: 940-943.
230. Antioxidant and cancer cell proliferation inhibition effect of citrus pectin-oligosaccharide prepared by irradiation / H.J. Kang [et al.] // *J. Med. Food.* – 2006. – Vol. 9. – № 3. – P.: 313-320.
231. Antioxidant and cancer cell proliferation inhibition effect of citrus pectin-oligosaccharide prepared by irradiation / H.J. Kang [et al.] // *J. Med. Food.* – 2006. – Vol. 9, № 3. – P.: 313-320.
232. Antiradiation damage effect of polyethylenimine as a toll-like receptor 5 targeted agonist / Z. Hu [et al.] // *J. Radiat. Res.* – 2013. – Vol. 54. – № 2. – P. : 243-250.
233. Aozasa, O. Enhancement in fecal excretion of dioxin isomer in mice by several dietary fibers / O. Aozasa, S. Ohta, T. Nakao // *Chemosphere.* – 2001. – Vol. 45. – № 2. – P. : 195-200.
234. Aparin P.G. Modified endotoxic bacteria lipopolysaccharide, combination of modified lipopolysaccharides and containing same, a vaccine and a pharma-

ceutical composition // US Pat. Appl. 20180043004 Filled 09.03.2017 / Publ 15.02.2018, 86 p.

235. Application of gamma irradiation for the enhanced physiological properties of polysaccharides from seaweeds / J.I. Choi [et al.] // Appl. Radiat. Isot. – 2009. – Vol. 67. – № 7-8. – P. 1277-1281.

236. Arfi C. Dioxins in adipose tissue of non-occupationally exposed persons in France: correlation with individual food exposure / C. Arfi, N. Seta, D. Fraisse // Chemosphere. – 2001. – vol.44. –№6. – P.: 1347-1352

237. Artigas, A. State of the art in the clinical treatment of endotoxic shock / A. Artigas, P. Piccinni // Blood Purif. 2014. – Vol. 37 (suppl.1).– №2-4. – doi: 10.1159/000356826.

238. Aryl hydrocarbon receptor activation reduces dendritic cell function during influenza virus infection / G.B. Jin [et al.] // Toxicol Sci. – 2010. – Vol. 116. – № 2. – P.: 514-522.

239. Asea, A. Heat shock proteins and toll-like receptors / A. Asea // Handb. Experim. Pharmacol. – 2008. – Vol. 183. – P. 111-127.

240. Asea A Evaluation of molecular chaperons Hsp72 and neuropeptide Y as characteristic markers of adaptogenic activity of plant extracts /A. Asea , P. Kaur , A. Panossian , K.G. Wikman // Phytomedicine. 2013. – v. 20. – № 14. – P.:1323-1329.

241. Aslami H. Induction of a hypometabolic state during critical illness - a new concept in the ICU? / H. Aslami, NP. Juffermans // Neth. J. Med. – 2010. – Vol. 68. – № 5. – P. 190-198.

242. Augmentation of innate immunity by low-dose irradiation / H. Ren [et al.] // Cell Immunol. – 2006. – Vol. 244. – № 1. – P.: 50-56.

243. Augmentation of vaccine-induced humoral and cellular immunity by a physical radiofrequency adjuvant / Cao Y. [et al.] // Nat. Commun. 2018. – V.9. – №1. – p:3695. – doi: 10.1038/s41467-018-06151-y.

244. Autophagy -physiology and pathophysiology / Y. Uchiyama [et al.] // Histochem. Cell. Biol. – 2008. – Vol.129. – №4. – P. 407-412.

245. Azad, P. Distinct role of Hsp70 in *Drosophila* hemocytes during severe hypoxia / P. Azad, J. Ryu, G.G. Haddad // *Free Radic Biol Med.* – 2011. – Vol. 51. – № 2. – P.: 530-538.
246. Bacterial infection elicits heat shock protein 72 release from pleural mesothelial cells / J.F. Varano Della Vergiliana [et. al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8. – № 5. – E: 63873.
247. Bae J.S. Role of high mobility group box 1 in inflammatory disease: focus on sepsis / J.S. Bae // *Arch Pharm Res.* - 2012. - Vol. 35. – № 9. – P. 1511-1523.
248. Barrett, JR. Diminished protection? Early childhood PCB exposure and reduced immune response to vaccinations / JR. Barrett // *Environ Health Perspect.* - 2010. - Vol. 118, № 10. – P. 445.
249. Basile L.A. Hema-Max™, a recombinant human interleukin-12, is a potent mitigator of acute radiation injury in mice and non-human primates [Электронный ресурс] / L.A. Basile [et al.] // *PLoS One.* – 2012. — Vol.7, № 2. – Режим доступа: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0030434>.
250. Batch-to-batch reproducibility of Transferon™ / E.Medina-Rivero [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2014. – Vol. 88. – № 3. – P.: 289-294.
251. Bean D. Miniature wearable laser treatment device /D. Bean , Z. Huang, S. Sreedhar // *US Pat.Appl.* 201900446811, Filed. 14.02 2018/Publ. 12.02.2019.- 8 pp.
252. Beattie G Protective effect of phosphatidylserine blockade in sepsis induced organ dysfunction / G. Beattie et al // *Surgery.* 2019. – pii: S0039-6060 (19) 30282-X. doi: 10.1016/j.surg.2019.05.020
253. Beebe SJ. Cell responses without receptors and ligands, using nanosecond pulsed electric fields (nsPEFs) / SJ. Beebe // *Int J Nanomedicine.* – 2013. – Vol. 92. – № 8. – P.: 3401-3404.
254. Bell I.R. Testing the nanoparticle-allostatic cross-adaptation-sensitization model for homeopathic remedy effects / I.R.Bell, M.Koithan, A.J. Brooks // *Homeopathy.* - 2013. - Vol. 102. – № 1. – P.: 66-81.

255. Berberine protects human renal proximal tubular cells from hypoxia/reoxygenation injury via inhibiting endoplasmic reticulum and mitochondrial stress pathways [Электронный ресурс] / W.Yu [et al.] // *J. Transl. Med.*–2013.– Vol.11.–Режим доступа: <http://www.translationalmedicine.com/content/11/1/24>.
256. Bertók L. Radio-detoxified endotoxin activates natural immunity: a review / L. Bertók // *Pathophysiology*. - 2005. - Vol. 12. – № 2. – P. :85-95.
257. Biochemical markers for the assessment of aquatic environment contamination / M. Havelková [et al.] // *Interdiscip. Toxicol.* – 2008. – Vol. 1. – № 2. – P. 169-181.
258. Bilog A.D. Membrane Localization of HspA1A, a Stress Inducible 70-kDa Heat-Shock Protein, Depends on Its Interaction with Intracellular Phosphatidylserine / A.D. Bilog et. al. // *Biomolecules* 2019. – vol. 9. – № 4. – P. 152. – <https://doi.org/10.3390/biom9040152>
259. Biological markers of injury-induced immunosuppression / C. Rouget [et al.] // *Minerva Anesthesiol.* 2017. – v. 83. – № 3. – P.: 302 - 314.
260. Birnbaum L.S. Non-carcinogenic effects of TCDD in animals / L.S. Birnbaum, J. Tuomisto // *Food Addit. Contam.* - 2000. - Vol. 17. – № 4. – P.: 275-288.
261. Blood Purification and Mortality in Sepsis: A Meta-analysis of Randoized Trials / F. Zhou [et al.] // *Crit Care Med.*– 2013. – Vol. 41. – № 9. – P.: 2209-2220.
262. Bolhassani A. Heat-shock proteins as powerful weapons in vaccine development / A. Bolhassani, S. Rafati // *Expert Rev. Vaccines.* –2008. – Vol. 7. – № 8. – P. 1185-1199.
263. Bond R.A. Is paradoxical pharmacology a strategy worth pursuing / R.A. Bond // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2001. – Vol. 22. – № 6. – P. : 273-276.
264. Borchardt A. Cloudbreak: a novel approach for the treatment and prevention of influenza virus / The congress of ESCMID, Amsterdam, 13-16 apr 2019, poster N0818.

265. Brancaccio, P. Biochemical markers of muscular damage / P. Brancaccio, G. Lippi, N. Maffulli // *Clin. Chem. Lab. Med.* - 2010. - Vol. 48, № 6. – P. 757-767.
266. Brundtland G.H A world at risk: annual report on global preparedness for health emergencies / Geneva: World Health Organization. World Global Preparedness Monitoring Board 2019. — 48 pp.
267. Brandtzaeg, P. The gut as communicator between environment and host: immunological consequences / P. Brandtzaeg // *Eur. J.Pharmacol.* . – 2011. – Vol. 668, Suppl.1. – S16-S32.
268. Bunce C.J. Development of vaccines to help treat drug dependence / C. J. Bunce, P.T. Loudon, C. Akers // *Curr. Opin. Mol. Ther.* – 2003. Vol. 5. – № 1. – P.: 58-63.
269. Burdelya, L.G. An agonist of toll-like receptor 5 has radioprotective activity in mouse and primate models / L.G. Burdelya, V.I. Krivokrysenko, T.C. Tallant // *Science.* – 2008. – Vol. 320. – № 5873. – P.: 226-230.
270. Buriani G. Heat-shock protein 70 from plant biofactories of recombinant antigens activate multiepitope-targeted immune responses / Buriani G [et al.] *Biotechnol J.* 2012.– v. 10. – № 3. – P.: 363-371.
271. Butkeviciute E. Heterologous effects of infant BCG vaccination: potential mechanisms of immunity / E.Butkeviciute [et al.] // *Future Microbiol.* 2018. – V. 13. – P.: 1193-1208.
272. Calabrese E.J. Evidence that hormesis represents an "overcompensation" response to a disruption in homeostasis / E.J. Calabrese // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* –1999. –Vol. 42. – № 2. – P. :135-137.
273. Cao C. Toll-like receptor 4 deficiency increases resistance in sepsis-induced immune dysfunction / C. Cao et. al. // *Int Immunopharmacol.* 2018. – v.54. – P.:169-176. – doi: 10.1016/j.intimp.2017.11.006.
274. Catalytic detoxification of nerve agent and pesticide organophosphates by butyrylcholinesterase assisted with non-pyridinium oximes / Z. Radić [et al.] // *Biochem. J.* – 2013. – Vol. 450. – № 1. – P.: 231-242.

275. Cawthorne C.H. Limited success of HCV antiviral therapy in United States veterans / C.H. Cawthorne, K.R. Rudat, M.S. Burton // *Amer. J. Gastroenterol.* – 2002. – Vol. 97. – № 1. – P.: 149-155.
276. Cazzola, M. Polyvalent mechanical bacterial lysate for the prevention of recurrent respiratory infections: a meta-analysis / M. Cazzola, S. Anapurapu, C.P. Page // *Pulm. Pharmacol. Ther.* – 2012. – Vol. 25. – № 1. – P.: 62-68.
277. CBLB613 – a TLR 2/6 agonist, natural lipopeptide of *Mycoplasma arginini* as a novel radiation countermeasure / V.K. Singh [et al.] // *Radiat Res.* – 2012. – Vol.177. – №5. – P.: 628-642.
278. CD64-Neutrophil expression and stress metabolic patterns in early sepsis and severe traumatic brain injury in children [Электронный ресурс] / D.M. Fitrolaki [et al.] // *BMC Pediatr.*–2013.– Vol.13.– Режим доступа: <http://www.biomedcentral.com/1471-2431/13/31>.
279. Characterization of Hsp70 gene in *Chironomus riparius*: expression in response to endocrine disrupting pollutants as a marker of ecotoxicological stress / M. Morales [et al.] // *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* – 2011. – Vol. 153. – № 1. – P.: 150-158.
280. Chen X. Laser vaccine adjuvant for cutaneous immunization / X. Chen, M.X. Wu // *Expert Rev. Vaccines.* – 2011. – Vol. 10. – № 10. – P. : 1397-1403.
281. Chitra K.C. Induction of oxidative stress by bisphenol A in the epididimal sperm of the rats / K.C. Chitra, C. Lachhoumycandane, P.P. Mathur // *Toxicol.* – 2003. – Vol. 185. – № 1-2. – P.: 119-127.
282. Chiu J.H. How does moxibustion possibly work? [Электронный ресурс] / J.H. Chiu // *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* – 2013. – Vol. 10. – № 3. – Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3623111>.
283. Choi I.S. Therapeutic effects of BCG vaccination in adult asthmatic patients: a randomized, controlled trial / I.S. Choi, Y.I. Koh // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* – 2002. – Vol. 88. – № 6. – P.: 584-591.

284. Choi J.I. Preparation of low molecular weight fucoidan by gamma-irradiation and its anticancer activity / J.I. Choi, H.J. Kim // *Carbohydr. Polym.* –2013. – Vol. 97. – № 2. – P.: 358-362.
285. Christensen H.R. Lactobacilli differentially modulate expression of cytokines and maturation surface markers in murine dendritic cells / H.R. Christensen, H. Frokiaer, J.J. Pestka // *J. Immunol.* –2002. –Vol. 168. – № 1. – P.: 171-178.
286. Chronic *Rhodiola rosea* extract supplementation enforces exhaustive swimming tolerance / F.T. Lee [et al.] // *Am. J. Chin. Med.* – 2009. – Vol. 37, №3. – P. : 557-572.
287. Ciarlo E. Epigenetics in sepsis: targeting histone deacetylases / E. Ciarlo, A. Savva, T. Roger // *Int. J. Antimicrob. Agents.* - 2013. - Vol. 42, Suppl. — S8-S12.
288. Circu M.L. Intestinal redox biology and oxidative stress / M.L. Circu, T.Y. Aw // *Semin. Cell. Dev. Biol.* – 2012. – Vol. 23. – № 7. – P. : 729-737.
289. Clarkson S.B. Developmentally regulated IgG Fc receptors on cultured human monocytes / S.B. Clarkson, P.A. Ory // *J. Exp. Med.* – 1998. –Vol. 167. – № 2. – P.: 408-420.
290. CO₂ laser therapy accelerates the healing of ulcers in the oral mucosa by inducing the expressions of heat shock protein-70 and tenascin C./ L. Gang [et al.] // *Histol Histopathol.* 2019. – v.34. – №2. – P.: 175-189.
291. Cohan C. Protective Effect of Phosphatidylserine Blockade in Hemorrhagic Shock./ C.Cohan et al.// *J. Surg. Res.* – vol.245. – P.: 604-609. doi: 10.1016/j.jss. 2019.07.050
292. Comparison between cold water immersion therapy (CWIT) and light emitting diode therapy (LEDT) in short-term skeletal muscle recovery after high-intensity exercise in athletes — preliminary results / E.C. Leal Junior [et al.] // *Lasers Med. Sci.* – 2011. – Vol. 26. – № 4. – P.: 493-501.

293. Comparison of Fc γ receptor expression on neutrophils with procalcitonin for the diagnosis of sepsis in critically ill patients / K.H. Hsu [et al.] // *Respirology*. – 2011. – Vol. 16. – № 1. – P.: 152-610.
294. Conformation-dependent high-affinity potent ricin-neutralizing monoclonal antibodies [Электронный ресурс] / W.G. Hu [et al.] // *Biomed. Res. Internat.* – 2013. – Режим доступа: <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2013/471346>.
295. Corticosteroid treatment inhibits airway hyperresponsiveness and lung injury in a murine model of chemical-induced airway inflammation / E. Wigenstam [et al.] // *Toxicol.* – 2012. – Vol. 301, №1-3. – P. 66-71.
296. Cowan, F.M. Sulfur mustard exposure enhances Fc receptor expression on human epidermal keratinocytes in cell culture: implications for toxicity and medical countermeasures / F.M. Cowan, C.A. Broomfield, W.J. Smith // *Cell Biol Toxicol.* – 1998. – Vol. 14. – № 4. – P.: 261-266.
297. Creatine-kinase and exercise-related muscle damage implications for muscle performance and recovery [Электронный ресурс] / M.F. Baird [et al.] // *J. Nutr. Metab.*–2012.– Vol.12. – Режим доступа: <http://www.hindawi.com/journals/jnme>.
298. Cross, A.S. Anti-endotoxin vaccines: Back to the future / A.S. Cross // *Virulence*. - 2014. - Vol. 5. – № 1. – P.: 219-225.
299. Cross-talk between TLR4 and Fc γ ReceptorIII pathways [Электронный ресурс] / D. Rittirsch [et al.] // *PLoS Pathog.* – 2009.– Vol. 5. – № 6. – Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19503602>.
300. Curcumin protects against sepsis-induced acute lung injury in rats [Электронный ресурс] / X. Xiao [et al.] // *J. Surg. Res.* – 2012. – Vol. 176. – № 1. – Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22520056>.
301. Cyclophosphamide augments ADCC by increasing the expression of Fc-receptors / M.S. Palermo[et al.] // *Immunol. Lett.*–1987.– Vol.15. – №1.– P. 83-87.

302. Cytotoxic T cells are the predominant players providing cross-protective immunity induced by γ -irradiated influenza A viruses / Y. Furuya [et al.] // *J. Virol.* – 2010. – Vol. 84, № 9. – P. 4212-4221.
303. Davies, B. Endotoxin removal devices for the treatment of sepsis and septic shock / B. Davies, J. Cohen // *Lancet Infect. Dis.* –2011. – Vol. 11. – № 1. – P.: 65-71.
304. Davison G. Bovine colostrum and immune function after exercise / G. Davison // *Med Sport Sci.* – 2012. – Vol. 59. – № 1. – P.: 62-69.
305. Design and development of stable, water-soluble, human Toll-like Receptor 2-specific, monoacyl lipopeptides as candidate vaccine adjuvants / D.B. Salunke [et al.] // *J. Med. Chem.* – 2013. – Vol. 56. – №14. – P.: 5885-5900.
306. Destructive Adsorption of Diazinon Pesticide by Activated Carbon Nanofibers Containing Al₂O₃ and MgO Nanoparticles / R. Behnam [et al.] // *Bull Environ Contam Toxicol.* – 2013. – Vol. 91. – № 4. – P.: 475-480.
307. Development of an acute, short-term exposure model for phosgene / S.T. Hobson et al. // *Toxicol Mech Methods* 2019.– v. 29.– №8.– P.:604-615
308. Dhabhar F.S. Short-term stress experienced at time of immunization induces a long-lasting increase in immunologic memory / F.S. Dhabhar, K. Viswanathan // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* - 2005. - Vol. 289, № 3. – P. R738-R744.
309. Diesel exhaust inhalation induces heat shock protein 70 expression in vivo / T. Kido [et al.] // *Inhal Toxicol.* – 2011. – Vol. 23. – № 10. – P. : 593-601.
310. Dietary nucleotide improves markers of immune response to strenuous exercise under a cold environment [Электронный ресурс] / J. Riera [et al.] // *J. Int. Soc. Sports Nutr.*–2013.–Vol.10.– № 1.– Режим доступа: <http://www.jissn.com/content/10/1/20>.
311. Differential regulation of detoxification enzymes in hepatic and mammary tissue by hops (*Humulus lupulus*) in vitro and in vivo / B.M. Dietz [et al.] // *Mol Nutr Food Res.* – 2013. – Vol. 57. – № 6. – P.: 1055-1066.

312. Dynamics of mycobacterial HSP65-induced T-cell cytokine expression during oral tolerance induction in adjuvant arthritis / P.M. Cobelens [et al.] // *Rheumatology*. – 2002. – Vol. 41. – № 3. – P.: 775-779.
313. Dioscin prevents LPS- induced acute lung injury through inhibiting the TLR4/MyD88 signaling pathway via upregulation of HSP70 / H. Zeng [et al.] // *Mol Med Rep*. 2018. – v. 17. – № 5. – p.:6752-6758.
314. Dioxins, Coca-Cola, and mass sociogenic illness in Belgium / B. Nemery [et al.]. // *Lancet*. – 1999. – Vol. 354, № 9172. – P. 77.
315. Disease development / A. Smit, [et al.] // *Altern. Ther. Health. Med.* – 2010. – Vol. 16. – № 3. – P.: 20-26.
316. Dodd S. Hsp70 prevents disuse muscle atrophy in senescent rats / S. Dodd, B. Hain, A. Judge // *Biogerontology*. – 2009. – Vol.10. – №5. – P.: 605-611.
317. Does activation of the FcγRIIa play a role in the pathogenesis of the acute lung injury/acute respiratory distress syndrome? / R. Fudala [et al.] // *Clin. Sci. (Lond)*. – 2010. – Vol.118. – №8. – P.: 519-526.
318. Dolina J.S. Liver-primed CD8+ T cells suppress antiviral adaptive immunity through galectin-9-independent T-cell immunoglobulin and mucin 3 engagement of high-mobility group box 1 in mice/ J.S. Dolina , T.J. Braciale, Y.S. Hahn // *Hepatology*. 2014. – v. 59. – № 4. – P.: 1351-1365.
319. Dorn, C. Protective effect of xanthohumol on toxin-induced liver inflammation and fibrosis / C. Dorn, J. Heilmann, C. Hellerbrand // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* – 2012. – Vol.5. – №1. – P.: 29-36.
320. Dörr, H. Medical management of radiation accidents: capabilities and deployment principles of the Bundeswehr Institute of Radiobiology / H. Dörr, V. Meineke // *Radiat. Prot. Dosimetry*. – 2012. – Vol. 151. – №4. – P. 629-632.
321. Eccentric exercise facilitates mesenchymal stem cell appearance in skeletal muscle [Электронный ресурс] / M.C. Valero [et al.] // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7, №1. – Режим доступа: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0029760> .

322. Effect of acute aerobic exercise on vaccine efficacy in older adults/ S.M. Ranadive [et al.] // *Med. Sci. Sports. Exerc.* – 2014. – Vol. 46. – №3. – P.: 455-461.
323. Effect of feeding maternal colostrum or plasma-derived or colostrum-derived colostrum replacer on passive transfer of immunity, health, and performance of preweaning heifer calves / D. Priestley [et al.] // *J. Dairy Sci.* – 2013. – Vol. 96. – № 5. – P.: 3247-3256.
324. Effect of gamma irradiated hyaluronic acid on acetaminophen induced acute hepatotoxicity / J.K. Kim [et al.] // *Chem. Biol. Interact.* – 2008. – Vol.172. – № 2. – P.: 141-53.
325. The effect of gamma-irradiation conditions on the immunogenicity of whole-inactivated Influenza A virus vaccine./ S.C.David [et al.] // *Vaccine.* 2017. –V.;35. – №7. – P.: 1071-1079
326. Effect of gamma irradiation on mistletoe (*Viscum album*) lectin-mediated toxicity and immune-modulatory activity / N.Y. Sung [et al.] // *FEBS Open Bio.* –2013. – Vol.3. – P. 106-111.
327. Effect of immunostimulation by detoxified *E. coli* lipopolysaccharide combined with inactivated propionibacterium granulosum cells on porcine immunity / D.Y. Lo [et al.] // *J. Vet. Med. Sci.* – 2009. – Vol. 71, № 7. – P. 897–903.
328. Effect of ionizing radiation on the physiological activities of ethanol extract from *hizikia fusiformis* cooking drips / H.J. Kim [et al.] // *Appl. Radiat. Isot.* – 2009. – Vol. 67. – № 7-8, P.: 1509-1512.
329. Effect of preventive acupuncture and moxibustion at "Guanyuan" (CV4) on the expression of HSP70 and HSP70 mRNA in spleen and the contents of serum IL-2 , TNF-alpha in menopausal rats / X.H. Li [et al.] // *Zhen Ci Yan Jiu.* – 2009. – Vol. 34. – № 2. – P.: 83-88.
330. Effect of rebamipide on cell death nduced by combined treatment of mild heat shock and quercetin in RGM-1 cells: a role for HSP70 induction / Y. Tsukimi Y.[et al.] // *Pharmacol.* – 2002. – Vol. 64. – №1. – P.: 28-35.

331. Effects of anthraquinone extract from *Rheum officinale* Bail on the physiological responses and HSP70 gene expression of *Megalobrama amblycephala* under *Aeromonas hydrophila* infection / B. Liu [et al.] // *Fish Shellfish Immunol.* – 2012. – Vol. 32. – № 1. – P.: 1-7.
332. Effects of chronic *Rhodiola Rosea* supplementation on sport performance and antioxidant capacity in trained male: preliminary results / A. Parisi [et al.] // *J. Sports Med. Phys. Fitness* – 2010. – Vol. 50. – № 1. – P.: 57-63.
333. Effects of N-acetylcysteine amide (NACA), a thiol antioxidant on radiation-induced cytotoxicity in Chinese hamster ovary cells / W. Wu [et al.] // *Life Sci.* – 2008. – Vol. 82. – № 21-22. – P. : 1122-1130.
334. Effects of pulsed electric field on secondary metabolism of *Vitis vinifera* L. cv. Gamay Fréaux suspension culture and exudates / Z. Cai [et al.] // *Appl Biochem Biotechnol.* – 2011. – Vol. 164. – №4. – P.: 443-453.
335. Effects of resistance exercise session after oral ingestion of melatonin on physiological and performance responses of adult men / A.A. Mero [et al.] // *Eur J. Appl. Physiol.* – 2006. – Vol. 96. – № 6. – P. : 729-739.
336. Effects of resveratrol on human immune cell function // R. Falchetti [et al.] // *Life Sci.* – 2001. – Vol. 70. – №1. – P.: 81-96.
337. Effects of TCDD on the fate of naive dendritic cells / J. Bankoti [et al.] // *Toxicol. Sci.* – 2010. – Vol. 115. – № 2. – P.: 422-434.
338. Efficacy of endotoxin adsorption therapy (polymyxin B hemoperfusion) for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* toxic shock syndrome. A case report about five patients / T. Taniguchi [et al.] // *Minerva Anesthesiol.* – 2013. – Vol.79, №7. – p. 758-761.
339. Egg yolk antibodies for detection and neutralization of *Clostridium botulinum* type A neurotoxin / D.L. Trott [et al.] // *J. Food Prot.* – 2009. – Vol.72. – №5. – P.: 1005-1011.
340. Electrophilic and redox properties of diesel exhaust particles / M. Shinyashiki [et al.] // *Environ Res.* – 2009. – Vol.109. – №3. – P. : 239-244.

341. Enhancement of the immunogenicity and protective efficacy of a mucosal influenza subunit vaccine by the saponin adjuvant GPI-0100 [Электронный ресурс] / H. Liu [et al.] // PLoS One. – 2012. – Vol. 7. – № 12. – Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23284901>.
342. Epidermal growth factor regulates hematopoietic regeneration after radiation injury / P.L. Doan [et al.] // Nat Med. – 2013. – Vol. 19. – № 3. – P. : 295-230.
343. Eritoran attenuates tissue damage and inflammation in hemorrhagic shock/trauma / S. Korff [et al.] // J. Surg. Res. – 2013. – Vol. 184. – № 2. – P.: 17-25.
344. Eritoran tetrasodium (E5564) treatment for sepsis: review of preclinical and clinical studies / A. Barochia [et al.] // Expert Opin. Drug Metab. Toxicol. – 2011. – Vol. 7. – № 4. – P.: 479-494.
345. Ethyl pyruvate reduces mortality in an endotoxin-induced severe acute lung injury mouse model / G.H. Shang [et al.] // Respir. Res. – 2009. – № 10. – P.: 91-100.
346. Evaluation of molecular chaperons Hsp72 and neuropeptide Y as characteristic markers of adaptogenic activity of plant extracts / A. Asea [et al.] // Phytomedicine. – 2013. – Vol. 20. – № 14. – P. : 1323-1329.
347. Evidence for a CD14- and serum-independent pathway in the induction of endotoxin tolerance in human monocytes and THP-1 monocytic cells / W. Heagy [et al.] // Shock. – 2003. – Vol. 19. – № 4. – P.: 321-327.
348. Ex vivo cytokine release reflects sensitivity to occupational endotoxin exposure / L.A. Smit [et al.] // Eur Respir J. – 2009. – Vol. 34. – № 4. – P.: 795-802.
349. Exercise intensity and recovery: Biomarkers of injury, inflammation and oxidative stress / A. Bessa [et al.] // J. Strength Cond. Res. – 2013. – Vol. 27. – № 8. – P.: 2096-2105.
350. Exogenous heat shock protein-70 inhibits cigarette smoke-induced intimal thickening / M. Matsumoto [et al.] // Am. J Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2008. – Vol. 295. – № 4. – P.: R1320-R1327.

351. Expression and immune localization of heat shock proteins in the healing of gastric ulcers in rats / J.S .Guo [et al.] // Scand. J. Gastroenterol. – 2002. – vol. 37. – №1. – P. 17-22.
352. Expression of heat shock proteins, Hsp70 and Hsp25, in the rat gingiva after irradiation with a CO2 laser in coagulation mode / A. Yamasaki [et al.] // J. Periodontal. Res. – 2010. – Vol. 45. – № 3. – P.: 323 - 330.
353. Extracellular heat shock proteins in cell signaling / S.K. Calderwood [et al.] // FEBS Lett. – 2007. – Vol. 581. – № 19. – P. : 3689-3694.
354. Fc fragment of IgG1 as a powerful affinity tag in recombinant Fc-fusion proteins: immunological, biochemical and therapeutic properties / S. Solelmanpour et al. // Crit.Rev.Biotechnol 2017. – v.37. –№3. – P.: 371-392
355. Fc-fusion proteins in therapy: An updated view/ R. Jafari et al. //Curr. Med. Chem. 2017. –v.24. – №12. – P .: 1228-1237
356. Finka, A. Proteomic data from human cell cultures refine mechanisms of chaperone-mediated protein homeostasis / A. Finka, P. Goloubinoff // Cell Stress Chaperones. – 2013. – Vol. 18. – №5. – P.: 591-605.
357. Flagellin Treatment Protects against chemicals, bacteria, viruses, and radiation / M. Vijay-Kumar [et al.] // J. Immunol. – 2008. – Vol. 180. – №12.–P.: 8280-8285.
358. Flowers C. Long term follow-up of a phase 2 study examining intratumoral G100 alone and in combination with pembrolizumab in patients with follicular lymphoma / C. Flowers // Blood 2018. – v. 132. – № 2892. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-117932>
359. Fujiwara, S. Prevalence of anti-hepatitis C virus antibody and chronic liver disease among atomic bomb survivors / S. Fujiwara, S. Kusumi, J. Cologne // Radiat. Res. – 2000. – Vol. 154, №1. – P. 12-19.
360. Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant accident: facts, environmental contamination, possible biological effects, and countermeasures / K. Anzai [et al.] // J. Clin. Biochem. Nutr. – 2012. – Vol. 50. – № 1. – P. :2-8.

361. Galactooligosaccharide supplementation reduces stress-induced gastrointestinal dysfunction and days of cold or flu: a randomized, double-blind, controlled trial in healthy university students / C. Hughes [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2011. – Vol. 93. – № 6.– P.: 1305-1311.
362. Gamaley I.A. Roles of reactive oxygen species: signaling and regulation of cellular functions / I.A. Gamaley, I.V Klyubin // *Int. Rev.Cytol.* – 1999. – Vol. 188. – P.: 203-255.
363. Gamma irradiation induced enhancement in isoflavones, total phenol, anthocyanin and antioxidant properties of varying seed coat colored soybean / H.J. Kang [et al.] // *J. Agric. Food. Chem.* – 2010. – Vol. 58.– № 7. – P.: 4298-4302.
364. Gamma-irradiated rotavirus: A possible whole virus inactivated vaccine / Shahrudin S [et al.] // *PLoS One.* 2018. – v. 13. – № 6: e0198182. doi: 10.1371 / journal.pone.0198182
365. García-Sastre, A. Cell biology: Beneficial lessons from viruses / A. García-Sastre // *Nature* – 2013. – Vol. 494. – №7436. – P.:181-182.
366. García-Sastre, A. Novel vaccine strategies against emerging viruses / A. García-Sastre, I. Mena // *Curr. Opin. Virol.* – 2013. – Vol. 3. – № 2. – P. 210-216.
367. Geranylgeranylacetone alleviates radiation-induced lung injury by inhibiting epithelial-to-mesenchymal transition signaling / J.S. Kim [et al.] // *Mol Med Rep.* 2016 v. 13. – № 6. – P.: 4666 - 4670.
368. Ghosh S.K. Synthetic adjuvants for vaccine formulations: phytol derivatives / S.K. Ghosh, R.R. Chowdhury // *Expert Opin. Drug Deliv.* – 2013. – Vol. 10. – №4. – P.: 437-450.
369. Ghyczy M. Simultaneous generation of methane, carbon dioxide, and carbon monoxide from choline and ascorbic acid: a defensive mechanism against reductive stress? / M Ghyczy, C Torday, M. Boros / *FASEB J.* – 2003. – Vol. 17. – № 9.– P. :1124-1126.

370. Ginsenoside Rg1 improves survival in a murine model of polymicrobial sepsis by suppressing the inflammatory response and apoptosis of lymphocytes / Y. Zou [et al.] // *Surg. Res.* – 2013. – Vol. 183. – № 2. – P.: 760-766.
371. Glutamine attenuates acute lung injury by inhibition of high mobility group box protein-1 expression during sepsis // W.Y. Kwon [et al.] // *Br. J. Nutr.* – 2010. – Vol. 103. – №6. – P.: 890-898.
372. Gomes, E.C. Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species [Электронный ресурс] / E.C. Gomes, A.N Silva, M.R. de Oliveira // *Oxidative Med. Cell. Longev.* – 2012. – Vol. 12. – Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3372226/>.
373. Grape seed procyanidin extract reduces the endotoxic effects induced by lipopolysaccharide in rats / V. Pallarès [et al.]. // *Free Radic. Biol. Med.* – 2013. – Vol. 60 C. – P.: 107-114.
374. Gunzer W. Exercise-induced immunodepression in endurance athletes and nutritional intervention with carbohydrate, protein and fat- what is possible, what is not? / W. Gunzer, M. Konrad, E. Pail // *Nutrients.* – 2012. – Vol. 4. – № 9. – P.: 1187-1212.
375. Gusev E.Y. Cellular Stress and General Pathological Processes / E.Y. Gusev, N.V. Zotova // *Curr Pharm Des* 2019. – v 25 . – № 3. – P.: 251-297
376. Hao N. The emerging roles of AhR in physiology and immunity / N. Hao, M.L. Whitelaw // *Biochem Pharmacol.* – 2013. – Vol. 86Ю– №5. – P.: 561-570.
377. Hardaway, R.M. 3rd. Overcompensation syndromes / R.M. Hardaway 3rd. // *South Med. J.* – 1981. – Vol. 74. – № 4. – P.: 405-409.
378. Hasegawa A. Relationship between HMGB1 and tissue protective effects of HSP72 in a LPS-induced systemic inflammation model. / A. Hasegawa [et al.] // *J Surg Res.* 2011. –v.169. – №1. –p:85-91.
379. He X. [Advances in sepsis induced immunosuppression and immune modulation therapy] / X. He , L.Bo., C. Jiang // *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue.* 2018. – V.30. – №12.–P.:1202-1205

380. Heagy, W. Lower levels of whole blood LPS-stimulated cytokine release are associated with poorer clinical outcomes in surgical ICU patients / W. Heagy, K. Nieman, C. Hansen // *Surg. Infect.* – 2003. – Vol. 4. – №2. – P.: 171–180.
381. Heat shock protein (Hsp) gene responses of the intertidal copepod *Tigriopus japonicus* to environmental toxicants / J.S. Rhee [et al.] // *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* – 2009. – Vol. 149– № 1. – P.: 104–112.
382. Heat shock protein: hard worker or bad offender for gastric diseases [Электронный ресурс] / H.J. Lee [et al.] // *Int J Proteomics.* – 2010. – Режим доступа: <http://www.hindawi.com/journals/ijpro/2010/259163>.
383. Heat shock proteins as dendritic cell-targeting vaccines - getting warmer / S. McNulty [et al.]. // *Immunology.* – 2013. – Vol. 139. – № 4. – P.: 407-415.
384. Heat shock proteins in toxicology: How close and how far? / C.S Gupta [et al.] // *Life Sci.* – 2010. – Vol. 86. – № 11-12. – P.: 377-384.
385. Heat-killed body of *Lactobacillus brevis* SBC8803 ameliorates intestinal injury in a murine model of colitis by enhancing the intestinal barrier function / N. Ueno [et al.] // *Inflamm. Bowel Dis.* – 2011. – Vol.17. – №11. – P.: 2235-2250.
386. Heat shock proteins 60 and 70 are associated with long-term outcome of T1-stage high-grade urothelial tumors of the bladder treated with intravesical *Bacillus Calmette-Guérin* immunotherapy / R. Mano [et al.] // *Urol Oncol.* 2018. – v. 36. – № 12.: 531.e9-531.e17. – doi: 10.1016/j.urolonc.2018.09.007.
387. Heat-shock protein 70 is involved in hyperbaric oxygen preconditioning on decompression sickness in rats / X.X. Ni [et al.] // *Exp. Biol. Med. (Maywood)* – 2013. – Vol. 238. – № 1. – P. 12-22.
388. Helium-induced cardioprotection of healthy and hypertensive rat myocardium in vivo / G.T. Oei [et al.] // *Eur. J. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 684. – № 1-3. – P.: 125-131.

389. Hellou, J. Glutathione, glutathione S-transferase, and glutathione conjugates, complementary markers of oxidative stress in aquatic biota / J. Hellou, N.W. Ross, T.W. Moon // *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* – 2012. – Vol. 19. – № 6. – P. 2007-2023.
390. Heterosubtypic cross-protection correlates with cross-reactive interferon-gamma-secreting lymphocytes in the ferret model of influenza / K.E. Gooch [et al.] // *Sci Rep.* 2019. – v.9. – №1. : 2617. doi: 10.1038/s41598-019-38885-0.
391. High resolution X-ray and NMR structural study of human T-cell immunoglobulin and mucin domain containing protein-3 / A.K. Gandhi [et al.] // *Sci Rep.* 2018. – v. 8. – № 1. – P.:17512.
392. Highly pathological influenza A virus infection is associated with augmented expression of PD-1 by functionally compromised virus-specific CD8+ T cells / J.A.Rutigliano [et al.] // *J. Virol.* 2014. – v. 88. – № 3. – P.:1636-1651.
393. Himalayan Bioresource *Rhodiola imbricata* as a promising radioprotector for nuclear and radiological emergencies / R. Chawla [et al.] // *J. Pharm. Bioallied Sci.* – 2010. – Vol. 2. – № 3. – P.: 213-219.
394. Hoffmann, J.J. Neutrophil CD64 as a sepsis biomarker / J.J. Hoffmann // *Biochem Med (Zagreb).* – 2011. – Vol. 21. – № 3. – P.: 282-290.
395. Hofstetter, A.M. Current thinking on genital herpes / A.M. Hofstetter, S.L. Rosenthal, L.R. Stanberry // *Curr. Opin. Infect. Dis.* – 2014. – Vol. 27, № 1. – P.: 75-83.
396. Hooper, P.L. Xenohormesis: health benefits from an eon of plant stress response evolution / P.L. Hooper // *Cell Stress Chaperones.*–2010.–Vol. 15. –№ 6. – P. 761-770.
397. Hormesis: What doesn't kill you makes you stronger / N.E. López-Diazguerrero [et al.] // *Med. Mex.* – 2013. – Vol. 149. – № 4. – P.: 438-447.
398. Hou L.C. Severity of sepsis is correlated with the elevation of serum high-mobility group box 1 in rats / L.C. Hou // *Chin. Med. J.* – 2009 – Vol. 122. – № 4. – P. :449-454.

399. Hougaard, K.D. Remote ischemic preconditioning in thrombolysed stroke patients: randomized study of active endogenous neuro-protection — design and MRI measurements / K.D. Hougaard, N. Hjort, D. Zeidler // *Int. J. Stroke.* – 2013. – Vol. 8. – № 2. – P.: 141-146.
400. Howitz, K.T. Xenohormesis: sensing the chemical cues of other species / K.T. Howitz, D.A. Sinclair // *Cell.* – 2008. – Vol. 133.: – № 3. – P.: 387-39.
401. Hsp70-dependent antiviral immunity against cytopathic neuronal infection by vesicular stomatitis virus / M.Y. Kim [et al.] // *J. Virol.* – 2013. – Vol. 87. – № 19. – P. :10668-10678.
402. Hsp70 Suppresses Mitochondrial Reactive Oxygen Species and Preserves Pulmonary Microvascular Barrier Integrity Following Exposure to Bacterial Toxins / X. Li [et al.] // *Front Immunol.* 2018. – v. 9. – № 1309. – doi: 10.3389/fimmu.2018.01309.
403. HSP-72 accelerated expression in mononuclear cells induced in vivo by acetyl salicylic acid can be reproduced in vitro when combined with H₂O₂ [Электронный ресурс] / A.A. Sandoval-Montiel [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. . – №6. – Режим доступа: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0065449>.
404. Hsp72 preserves muscle function and slows progression of severe muscular dystrophy / S.M. Gehrig [et al.] // *Nature.*–2012.–Vol. 484. – № 7394. – P.: 394-398.
405. Human CD8 T cell cross-reactivity across influenza A, B and C viruses / M.Koutsakos [et al.] // *Nat Immunol.* 2019. – doi: 10.1038/s41590-019-0320-6.
406. Human recombinant Hsp70 affects the maturation pathways of dendritic cells in vitro and has an in vivo adjuvant activity / B. Valentini [et al.] // *Leukoc. Biol.* – 2008. – Vol.84. – № 1. – P.: 199-206.
407. Hypogammaglobulinemia in racing Alaskan sled dogs / E. McKenzie [et al.] // *J. Vet. Intern. Med.* – 2010. – Vol. 24. – № 1. – P.: 179-184.
408. Identification and characterization of the direct interaction between methotrexate (MTX) and high-mobility group box-1 (HMGB1) Protein [Электрон-

ный ресурс] / Y. Kuroiwa [et al.] // PLoS One. – 2013. – Vol. 8. – № 5. – Режим доступа: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0063073>.

409. Identification of granulocyte colony-stimulating factor and interleukin-6 as candidate biomarkers of CBLB502 efficacy as a medical radiation countermeasure / V.I. Krivokrysenko [et al.] // J. Pharmacol. Experim. Therap. – 2012. – Vol. 343. – № 2. – P.: 497-508.

410. Iida, T. Stimulation or sebum excretion of PCDDs, PCDFs and coplanar PCBs on bathing ceramic sand bath / T. Iida, H. Hirakawa, T. Matsueda // Fukuoka Igaku Zasshi. – 1997. – Vol. 88. – № 5. – P.: 186-192.

411. Immune response to chemically modified proteome / S. Bhat [et al.] // Proteomics Clin Appl. – 2013. – Vol. 8. – № 2. – P. : 124-133.

412. Immunoadjuvant effects of hemagglutinating virus of Japan envelope (HVJ-E) on the inactivated H9 subtype avian influenza virus vaccine / Q. Zhang [et al.] // Vet Immunol Immunopathol. 2011. – v. 141. – № 1-2. – P.:116-123.

413. Immunohistochemical and molecular biomarkers in Coris julis exposed to environmental contaminants / S. Fasulo [et al.] // Ecotoxicol. Environ Saf. – 2010. – Vol. 73. – №5. – P.: 873-882.

414. Impact of haemorrhagic shock intensity on the dynamic of alarmins release in porcine poly-trauma animal model./ K. Horst [et al.] // Eur J Trauma Emerg Surg. 2016. –v.42. – №1. –P.: 67-75.

415. Impregnated silica nanoparticles for the reactive removal of sulphur mustard from solutions / B. Singh [et al.] // J. Hazard. Mater. – 2009. – Vol.161, №2-3. – P. 933-940.

416. Improvement of chaperone activity of 2-Cys peroxiredoxin using gamma ray / B.C. An [et al.] // J Radiat Res. – 2011. – Vol. 52, № 6. – P. 694-700.

417. In contrast to conventional inactivated influenza vaccines, 4xM2e-HSP70c fusion protein fully protected mice against lethal dose of H1, H3 and H9 influenza A isolates circulating in Iran / S.M. Ebrahimi [et al.] // Virology. – 2012. – Vol. 430. – №1. – P. 63-72.

418. *Indigofera suffruticosa* Mill as new source of healing agent: involvement of prostaglandin and mucus and heat shock proteins / A. Luiz-Ferreira [et al.] // *J Ethnopharmacol.* – 2011. – Vol. 137. – № 1. – P. :192-198.
419. Induction of heat shock gene expression in RAT1 primary fibroblast cells by ELF electric fields / P. Frisch [et al.] // *Bioelectro-magnetics.* – 2013. – Vol. 34. – №5. – P.: 405-413.
420. Induction of heat shock protein 70 protects thymocytes against radiation-induced apoptosis / S.A. Gordon // *Arch Surg.* – 1997. – Vol. 132. – № 12. – P.: 1277-1282.
421. Inflammation and immunity in radiation damage to the gut mucosa [Электронный ресурс] / A.François [et al.] // *Biomed. Res. Int.* – 2013. – Vol. 13. – Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/123241>.
422. Influenza vaccine pilot study in acute coronary syndromes and planned percutaneous coronary interventions: the FLU Vaccination Acute Coronary Syndromes (FLUVACS) Stud / E.P. Gurfinkel [et al.] // *Circulation.* – 2002. – Vol. 105. – № 18. – P.: 2143-2147.
423. Influenza Vaccine Response in Adults Exposed to Perfluorooctanoate and Perfluorooctanesulfonate / C. Looker [et al.] // *Toxicol Sci.* – 2014. – Vol. 138. – №1. – P. :117-121.
424. Inhibition of enveloped viruses infectivity by curcumin [Электронный ресурс] /T.Y.Chen[et al.] // *PLoS One.*– 2013 – Vol.8, №5.– Режим доступа: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0062482>.
425. Insulin reduces LPS-induced lethality and lung injury in rats / M.L. Liu [et al.] // *Pulm. Pharmacol. Ther.* – 2012. – Vol. 25. – № 6. – P.: 472-477.
426. Into the eye of the cytokine storm / J.R. Tisoncik [et al.] // *Microbiol Mol Biol Rev.* – 2012. – Vol.76. – №1. – P.: 16-32.
427. Intranasal influenza vaccination using a new synthetic mucosal adjuvant SF-10: induction of potent local and systemic immunity with balanced Th1 and Th2 responses / T. Kimoto [et al.] // *Influenza Other Resp. Viruses.* – 2013. – Vol. 7. – № 6. – P.: 10153-10161.

428. Involvement of heat shock proteins in the healing of acetic acid-induced gastric ulcers in rats / Y. Tsukimi [et al.] // *J. Physiol. Pharmacol.* – 2001. – Vol. 52. – №3. – P. :391-406.
429. Jain S. The long-term potential of biodegradable poly(lactide-co-glycolide) microparticles as the next-generation vaccine adjuvant / S. Jain, D.T. O'Hagan, M. Singh // *Expert. Rev. Vaccines.* – 2011. – Vol. 10. – № 12. – P.: 1731-1742.
430. James K. Binding of C-reactive protein to human lymphocytes. II. Interaction with a subset of cells bearing the Fc receptor / K. James, B. Hansen, H. Gewurz // *J Immunol.* – 1981. – Vol. 127. –№ 6. – P.: 2545-2550.
431. Jang J.E. Intravenous immunoglobulins modulate neutrophil activation and vascular injury through FcγRIII and SHP-1 / J.E. Jang, A. Hidalgo, P.S. Frenette // *Circ Res.* – 2012. – Vol. 110. – № 8. – P. : 1057-1066.
432. Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) Hsp70: adjuvant effect and its dependence on the intrinsic ATPase activity / Y.H. Hu [et al.] // *Fish Shellfish Immunol.* – 2012. – Vol. 33. – № 4. – P.: 829-834.
433. Jegaskanda S . The Potential Role of Fc-Receptor Functions in the Development of a Universal Influenza Vaccine / S. Jegaskandra // *Vaccines (Basel)*. 2018. – v. 6. – № 2. – doi: 10.3390/vaccines6020027.
434. Joseph J. Protective effect of polysaccharide-protein complex from a polypore mushroom, *Phellinus rimosus* against radiation-induced oxidative stress / J. Joseph, S.N. Panicker, K.K. Janardhanan // *Redox Rep.* – 2012. – Vol. 17. – № 1. – P.: 22-27.
435. Kang K.M. Effects of drinking hydrogen-rich water on the quality of life of patients treated with radiotherapy for liver tumors / K.M. Kang, Y.N. Kang, I.B. Choi // *Med. Gas. Res.* – 2011. – Vol. 1. – № 1. – P.: 11-19.
436. Kaushik, S. Chaperone-mediated autophagy / S. Kaushik, A.M. Cuervo // *Methods Mol. Biol.* – 2008. – Vol. 445. – P.: 227-244.
437. Kerkvliet, N.I. Recent advances in understanding the mechanisms of TCDD immunotoxicity / N.I. Kerkvliet // *Int. Immunopharmacol.* – 2002. – Vol. 2. – № 2-3. – P.: 277-291.

438. Kiberd, M. Campbell S : Delayed-onset rhabdomyolysis after intense exercise / M. Kiberd // *CMAJ*. – 2011. – Vol. 183. – № 16. – P.: E1222.
439. Kim J.Y. Radioprotective effect of newly synthesized toll-like receptor 5 agonist KMRCO1 exposed to total-body radiation / J.Y.Kim et al.// *J. Radiat Res* 2019. – vol.60. –№4.– P.: 432-441
440. Kim W. Cellular stress responses in radiotherapy / W.Kim et al.// *Cells* 2019. – vol.18. –№9. – doi: 10.3390/cells8091105
441. Kobayashi K. Induction of heat-shock protein by moxibustion / K. Kobayashi // *Am. J. Chin. Med.* –1995. – Vol. 23. – № 3-4. – P. 327-330.
442. Koncic M.Z. New insights into dietary supplements used In sport: active substances, pharmacological and side effects / MZ Koncic, M. Tomczyk // *Curr. Drug Targets*. – 2013. – Vol.14. – № 9. – P.: 1079-1092.
443. Kosten T.R. Human therapeutic cocaine vaccine: safety and immunogenicity / T.R. Kosten, M. Rosen, J. Bond // *Vaccine*. – 2002. – Vol. 20. – № 7-8. – P.: 1196-1204.
444. Koukourakis MI. Radiation damage and radioprotectants: new concepts in the era of molecular medicine / MI. Koukourakis // *Br. J. Radiol.* – 2012. – Vol. 85. – № 1012. – P.: 313-330.
445. Kramer, P. Rational approach to fractionation, isolation, and characterization of polysaccharides from the lichen *Cetraria Islandica* / P. Kramer, U. Wincierrz, G. Grubler // *Arheimittel-Forschung*. – 1995. – Vol. 45. – № 1. – P.: 726-735.
446. Kruger K. Role of heat shock proteins 70/90 in exercise physiology, exercise immunology and their diagnostic potential in sports / K. Kruger , T. Reichel T., C. Zeilinger // *J. Appl. Physiol.* 1985.– doi:10.1152/jappphysiol.01052. 2018
447. Kugelberg, E. Immune homeostasis: Balancing the gut / E. Kugelberg // *Nat. Rev.Immunol.* – 2013. – Vol. 13. – № 12. – P.: 848-849.
448. Lacave-Lapalun, J.V. Flagellin and LPS each restores rat lymphocyte populations after colorectal irradiation / J.V.Lacave-Lapalun, M. Benderitter, C. Linard // *J. Leukoc. Biol.* – 2014. – Vol. 95. – № 3. – P. : 205-209.

449. Lactobacillus probiotic protects intestinal epithelium from radiation injury in a TLR-2/cyclooxygenase-2-dependent manner / M.A. Ciorba [et al.] // Gut. – 2012. – Vol. 61. – № 6. – P.: 829-838.
450. Lag, L.L. Immunoglobulin M as a vaccine adjuvant / L.L. Lag // Med Hypotheses. – 2011. – Vol. 77. – № 4. – P. : 473-478.
451. Laser Adjuvant-Assisted Peptide Vaccine Promotes Skin Mobilization of Dendritic Cells and Enhances Protective CD8 T and T Cell Responses against Herpesvirus Infection and Disease / P.P. Lopes [et al.] // J Virol. 2018. – v. 92. – № 8. – doi: 10.1128/JVI.02156-17.
452. Laser Immunotherapy in Combination with Perdurable PD-1 Blocking for the Treatment of Metastatic Tumors / L. Luo [et al.] // ACS Nano. 2018. – v. 12. – № 8. – P.:7647-7662.
453. Lee, J. Protection against cyclophosphamide-induced myelosuppression by ZPDC glycoprotein (24 kDa) / J. Lee, K.T. Lim // Immunol. Invest. – 2013. – Vol. 42. – № 1. – P.: 61-80.
454. Leschinsky B. Treatment methods and biologically active preparations using blood of a donor subjected to remote conditioning // US Pat Appl. 9.950.009. – Filled 13.02.2017. – Publ. 24.04.2018. – 80 p.
455. Leucocytes, cytokines and satellite cells: what role do they play in muscle damage and regeneration following eccentric exercise? / G. Paulsen [et al.] // Exerc. Immunol. Rev. – 2012. – Vol. 18. – P.: 42-97.
456. Li, Q. Effect of ziram on natural killer, lymphokine-activated killer, and cytotoxic T lymphocyte activity / Q. Li, M. Kobayashi, T. Kawada // Arch Toxicol. – 2012. – Vol. 86,. – № 3. – P.: 475-481.
457. Li, Y. A 3.0-kDa low molecular weight heparin promotes gastric ulcer healing in rats / Y. Li, V.Y. Shin, C.Y. Cheuk // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2001. – Vol. 15. – № 12. – P. : 2009-2017.
458. Li W.H. High altitude hypoxia on brain ultrastructure of rats and Hsp70 expression changes W.H. Li , Y.X. Li , J. Ren // Br J Neurosurg. 2019.– v. 1. – № 4. – doi: 10.1080/02688697.2018. 1519108

459. Li W. The Association Between the Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio and Mortality in Patients With Acute Respiratory Distress Syndrome: A Retrospective Cohort Study. / W Li et. al. // *Shock*. 2019. – v. 51. –N2. – P.:161-167.
460. Liao, Y. The Critical Roles of HSC70 in Physiological and Pathological Processes / Y.Liao, L.Tang // *Curr. Pharm. Des.* 2014.–Vol. 2.–№ 1.– P. : 101-107.
461. Licciardi P.V. Vaccine adjuvant properties of probiotic bacteria / P.V. Licciardi, M.L. Tang // *Discov. Med.* 2011. – Vol. 12. – № 67. – P. : 525-533.
462. Lila B.A. Enhanced immune sera and vaccine: safe approach to treat scorpion envenoming / B.A. Lila, F. Laraba-Djebari // *Vaccine*. 2011. – Vol. 29, №48. – P. 8951-8959.
463. Lipopolysaccharide pretreatment protects against ischemia/reperfusion injury via increase of HSP70 and inhibition of NF- κ B / Y.W. Yao [et al.] // *Cell Stress Chaperones*. 2011. – Vol. 16. – № 3. – P.: 286 – 297.
464. Gross P. Lipopolysaccharide-trap-Fc, a multifunctional agent to battle gram-negative bacteria / P. Gross // *Infect Immun*. 2009. – Vol. 77. – №7. – P.: 2925-2931.
465. Liu D. Recent advances in endotoxin tolerance / D Liu et. al. // *J Cell Biochem* 2019. – v. 120. – № 1. – P.: 56-70
466. Liu S. Preparation and characterization of immune-globulin yolk against the venom of *Naja naja* / S. Liu, W. Dong, T. Kong // *Indian J. Exp. Biol.* – 2010. – Vol. 48. – № 8. – P.: 778-785.
467. Liu Z Toll-like receptors and radiation protection / Z. Liu et al//*Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2018. – V.22. – №1.– P. : 31-39. – doi: 10.26355/eur-rev_201801_14097.
468. Localized Gene Induction by Infrared-Mediated Heat Shock / M. Venero Galanternik [et al.] // *Zebrafish*. 2016. – v. 13. – № 6.– P.:537-540.
469. Loganetin protects against rhabdomyolysis-induced acute kidney injury by modulating the Toll-like receptor 4 signaling pathway / J. Li [et al.] // *Br. J. Pharmacol*. 2019. – doi: 10.1111/bph.14595.

470. Long, R.Q. Carbon nanotubes as superior sorbent for dioxin removal / R.Q. Long, R.T. Yang // *J. Am. Chem. Soc.* – 2001. – Vol. 123. – № 9. – P. : 2058-2059.
471. Lopez V. Bacterial Hsp70 (DnaK) and mammalian Hsp70 interact differently with lipid membranes / V.Lopez [et al.] // *Cell Stress Chaperones*. 2016. – v. 21. – № 4. – P.: 609-616.
472. Loss of immunogenicity of liver dendritic cells from with chronic hepatitis / M. Abe [et al.] // *Internat. J. Mol. Med.* – 2002. – Vol. 9. –№1. – P.: 71-76.
473. Loss of the inducible hsp70 delays the inflammatory response to skeletal muscle injury and severely impairs muscle regeneration [Электронный ресурс] / S.M. Senf [et al.] // *PLoS One.*– 2013.– Vol.8. – №4. – Режим доступа: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0062687>.
474. LPS-Induced Autophagy Is Mediated by Oxidative Signaling in Cardiomyocytes and is Associated with Cytoprotection / H. Yuan [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 2009. – Vol. 296. – № 2. – P. : H470-H479.
475. Lu X. Low molecular weight heparin prevents CLP-induced acute lung injury in rats by antiinflammatory coagulation / X. Lu, L. Zhao, Y.H. Xu // *Bosn. J. Basic Med. Sci.* – 2013. – Vol. 13. – № 1. – P.: 50-56.
476. Luan, Z.G. Treatment of Low Molecular Weight Heparin Inhibits Systemic Inflammation and Prevents Endotoxin-Induced Acute Lung Injury in Rats / Z.G. Luan, M. Naranpurev, X.C. Ma // *Inflammation* . – 2014. – Vol. 37. – № 2. – P.: 147-151.
477. Lukaszewicz, A.C. Purification methods: a way to treat severe acute inflammation related to sepsis? / A.C. Lukaszewicz, D. Payen // *Crit Care.* – 2013 – Vol. 17. – № 3. – P.: 159-166.
478. Luo L. L-glutamine protects mouse brain from ischemic injury via up-regulating heat shock protein 70 /L.Luo et al.// *CNS Neurosci Ther* 2019.-doi^10.1111/cns.13184
479. Lünemann, J.D. Autophagy in CD4+ T-cell immunity and tolerance / J.D. Lünemann, C. Münz // *Cell Death Differ.* – 2009. – Vol. 16.– № 1. – P.: 79-86.

480. Ma, S. Pulsed electric field-assisted modification of pectin from sugar beet pulp / S. Ma, Z.H. Wang // *Carbohydr Polym.* – 2013. – Vol. 92. – № 2. – P.: 1700-1704.
481. Mackay, I.R. Autoimmune diseases of the liver, autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis : Unfinished business / I.R. Mackay // *Hepatol. Research.* – 2007. – Vol. 46. –№ 30. – P. : 3021-3033.
482. Management of Radiation Injuries by Panax ginseng Extract / P. Verma [et al.]. // *J Ginseng Res.* – 2011. – Vol. 35. – № 3. – P. : 261-271.
483. Managò A Extracellular nicotinate phosphoribosyltransferase binds Toll like receptor 4 and mediates inflammation / A. Manago et. al. // *Nat Commun* 2019. – v. 10. – №1.–p.: 4116. – doi: 10.1038/s41467-019-12055-2.
484. Mao Y. Heat shock protein A12A encodes a novel prosurvival pathway during ischaemic stroke | Y Mao et al./ *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 2018. – v.1864. –№5 (Pt. A). – P.: 1862-1872
485. Maranzana A. Loss of glutathione, Ascorbate Recycling and free radical scavengers in human erythrocytes exposed to filtered cigarette smoke / A. Maranzana, R.J. Mehlharu // *Arch. Biochem. Biophys.* 1998. – Vol. 350. –№. 2. – P.: 169-182.
486. Mariottini M. Pesticides and polychlorinated biphenyl residues in human adipose tissue / M. Mariottini, C. Guerranti, S. Aurigi // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2002. – Vol. 68. – № 1. – P.: 72-78.
487. Martin K.R. Reactive oxygen species as double-edged swords in cellular processes: low-dose cell signaling versus high-dose toxicity / K.R. Martin, J.C. Barrett // *Hum Exp Toxicol.* 2002. – Vol. 21. – № 2. – P. :71-75.
488. Masao T.J. Sonochemistry in water treatment / T.J. Masao, A.P. Newman, S.S. Pholl // *BHR Group Conf. Ser. Publ.* 1993. – Vol. 8. – P. 243-250.
489. Matsumura, F. Evidence supporting the hypothesis that one of the main functions of the aryl hydrocarbon receptor is mediation of cell stress responses / F. Matsumura, C.F. Vogel // *Biol Chem.* 2006. – Vol. 387. – № 9. – P.: 1189-1194.

490. Matsumura, F. On the significance of the role of cellular stress response reactions in the toxic actions of dioxin / F. Matsumura // *Biochem. Pharmacol.* 2003. – Vol. 66. – № 4. – P. : 527-540.
491. Mattson, M.P. Hormesis defined / M.P. Mattson // *Ageing Res. Rev.* 2008. – Vol. 7. – P.: 1-7.
492. Mattson, M.P. Hormesis and disease resistance: activation of cellular stress response pathways / M.P. Mattson // *Hum Exp Toxicol.* 2008. – Vol. 27. – № 2. – P.: 155-162.
493. McGhan, L.J. The role of toll-like receptor-4 in the development of multiorgan failure following traumatic haemorrhagic shock and resuscitation / L.J. McGhan, D.E. Jaroszewski // *Injury* 2012. – Vol. 43. – № 2. – P.: 129-136.
494. Meador, B.M. Glutamine preserves skeletal muscle force during an inflammatory insult / B.M. Meador, Huey K.A. // *Muscle Nerve.* 2009. – Vol. 40. – № 6. – P.: 1000-1007.
495. Meamarbashi, A. : The effects of peppermint on exercise performance / A. Meamarbashi, A. Rajabi // *J. Int. Soc. Sports Nutr.* 2013. – Vol. 10. – № 1. – P. : 15-21.
496. Mechanism of acute lung injury due to phosgene exposition and its protection by caffeic acid phenethyl ester in the rat / P. Wang [et al.] // *Experim. – Toxicol. Pathol.* 2013. – Vol. 65. – № 3. – P. : 311-318.
497. Meduri G.U. Activation and regulation of systemic inflammation in ARDS: rationale for prolonged glucocorticoid therapy. / G.U. Meduri et. al. // *Chest.* 2009. – v. 136. – № 6. – P.: 1631-1643.
498. Menendez J.A. Xenohormetic and anti-aging activity of secoiridoid polyphenols present in extra virgin olive oil: A new family of gerosuppressant agents / J.A. Menendez, J. Joven, G. Aragonès // *Cell Cycle* 2013. –Vol. 12. – № 4. – P. : 555-578.
499. Mesenchymal stem cells contribute to vascular growth in skeletal muscle in response to eccentric exercise / H.D. Huntsman [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2013. – Vol. 304. –№ 1. – P.: H72-H81.

500. Metformin inhibits HMGB1 release in LPS-treated RAW 264.7 cells and increases survival rate of endotoxaemic mice / K. Tsoyi [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* 2011. – Vol. 16. – №7. – P.: 1498-1508.
501. Mild eccentric exercise increases Hsp72 content in skeletal muscles from adult and late middle-aged rats / E.J. Lewis [et al.] // *Cell Stress Chaperones.* – 2013. – Vol. 18. – № 5. – P. : 666-673.
502. Milisav I. Adaptive response, evidence of cross-resistance and its potential clinical use [Электронный ресурс] / I. Milisav, B. Poljsak, D. Suput // *Int. J. Mol. Sci.* – 2012. – Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3472714>.
503. Mitchell, K.A. Exposure of 2,3,7,8 – tetrachlordibenzo-p-dioxin (TCDD) renders influenza virus-specific CD8 + T-cells hyporesponsive to antigen / K.A. Mitchell, B.P. Lawrence // *Toxicol.Sci.* 2003. – Vol. 74. – № 1. – P.: 74-84.
504. Mitigation of radiation injury by selective stimulation of the LPA(2) receptor / G.N. Kiss [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta.* 2013. – Vol. 1831. – № 1. – P.: 117-125.
505. Mitigation of radiation-induced lung injury with EUK-207 and genistein: effects in adolescent rats / J. Mahmood [et al.] // *Radiat Res.* 2013. – Vol.179. – №2. – P.: 125-134.
506. Moderate-intensity treadmill running promotes expansion of the satellite cell pool in young and old mice / G. Shefer [et al.] // *FEBS J.* – 2013. – Vol. 280. – №17. – P.: 4063-4073.
507. Modulatory effects of arginine, glutamine and branched-chain amino acids on heat shock proteins, immunity and antioxidant response in exercised rats / C.S. Moura [et al.] // *Food Funct.* 2017. – Vol.. 8. – № 9. – P.: 3228-3238.
508. Monette A, Mouland AJ. T Lymphocytes as Measurable Targets of Protection and Vaccination Against Viral Disorders /A. Monette , A.J. Mouland // *Int Rev Cell Mol Biol.* 2019. – v. 342 p.:175-263.

509. Monoclonal antibody against human Tim-3 enhances antiviral immune response / G. Li [et al.] // *Scand J Immunol.* 2019. – v. 89. – № 2. - e12738. – doi: 10.1111/sji.12738.
510. Morita, K. Effect of chlorella, spirulina, and chlorophyllin on fecal excretion of polychlorinated dibenzo-p-dioxins in rats / K. Morita, T. Matsueda, T. Iida // *Jpn. J. Toxicol. Envir. Health.* 1997. – Vol. 43. – № 1. – P.: 42-47.
511. Morita, K. Seaweed accelerates the excretion of dioxin stored in rats / K. Morita, T. Nakano // *J. Agric. Food Chem.* 2002. – Vol. 50, №4. – P. 910-917.
512. Morotomi-Yano, K. Nanosecond Pulsed Electric Fields as a Novel and Unique Tool for Quick and Efficient Induction of Stress Responses in Human Cells / K. Morotomi-Yano, K. Yano // 83 Ann. Meeting Jap. Biochem. Soc. 2010, Dec 7. – P.: 283-284.
513. Moxibustion attenuates inflammatory response to chronic exhaustive exercise in rats / J. Lu [et al.]. // *Int. J. Sports Med.* 2012. – Vol. 33. – №7. – P.: 580-585.
514. Multhoff G. Heat shock proteins in immunity / G. Multhoff // *Handb. Exp. Pharmacol.* 2006. – Vol. 172. – P. 279-304.
515. Murakami A. Modulation of protein quality control systems by food phytochemicals / A. Murakami // *J. Clin. Biochem. Nutr.* – 2013.–Vol.52. – №3. – P. : 215-227.
516. Murayama, T. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin is a possible activator of human cytomegalovirus replication in a human fibro-blast cell line / T. Murayama, M. Inoue, T. Nomura // *Biochem Biophys Res Commun.* 2002. –Vol. 296. – № 3. – P.: 651-656.
517. N-acetylcysteine attenuates phosgene-induced acute lung injury via up-regulation of Nrf2 expression // L. Ji [et al.] // *Inhal. Toxicol.* 2010. – Vol. 22. – № 7. – P.: 535-542.
518. Nagayama, S. Carbenoxolone, a new inducer of heat shock protein-70 / S. Nagayama, H. Jono, H. Suzaki // *Life Sci.* – 2001.–Vol. 69.– №24. – P.: 2867-2873.

519. Nanosecond pulsed electric fields act as a novel cellular stress that induces translational suppression accompanied by eIF2 α phosphorylation and 4E-BP1 dephosphorylation/ K. Morotomi-Yano [et al.] // *Exp. Cell. Res.* – 2012. – Vol. 318. – № 14. – P.: 1733-1744.
520. Naviaux, RK. Oxidative shielding or oxidative stress? / RK. Naviaux // *J.Pharmacol. Exp.Ther.* – 2012. – Vol. 342, – № 3. – P. : 608-618.
521. Near-Infrared 1064 nm Laser Modulates Migratory Dendritic Cells To Augment the Immune Response to Intradermal Influenza Vaccine / K. Morse [et al.] // *J Immunol.* 2017. – v. 199. – № 4. – P.: 1319-1332.
522. Near-infrared laser adjuvant for influenza vaccine [Электронный ресурс] / S.Kashiwagi [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8 – № 12. – Режим доступа: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0082899>.
523. Nedeva C Sepsis: Inflammation Is a Necessary Evil / C Nedeva, J Menassa, H Puthalakath // *Front Cell Dev Biol.* 2019. – v. 7:108. doi: 10.3389/ fcell. 2019. 00108
524. Neutralization of the pharmacological effects of Cobra and Krait venoms by chicken egg yolk antibodies / S. Meenatchisundaram [et al.] // *Toxicon.* 2008. – Vol. 52. – № 2. – P. : 221-227.
525. Neutralization of lipopolysaccharide by heat shock protein in *Pediococcus pentosaceus* AK-23 / K. Asami [et al.] // *J. Food Sci.* 2017. – v. 82. – № 7. – P.: 1657-1663.
526. Next generation OP-bioscavengers: a circulatory long-lived 4-PEG hypolysine mutant of F338A-HuAChE with optimal pharmacokinetics and pseudocatalytic characteristics / C. Kronman [et al.] // *Chem. Biol. Interact.* 2010. – Vol. 187. – № 1-3. – P.: 253-258.
527. Noble, E.G. Impact of exercise and metabolic disorders on heat shock proteins and vascular inflammation [Электронный ресурс] / E.G. Noble, G.X. Shen // *Autoimmune Dis.* 2012. – Режим доступа: <http://www.hindawi.com/journals/ad/2012/836519>.

528. Non-specific protein modifications by a phytochemical induce heat shock response for self-defense [Электронный ресурс] / K. Ohnishi [et al.] // PLoS One. – 2013. – Vol. 8.– № 3.– Режим доступа: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0058641>.
529. Novel Role for Glutathione S-Transferase- regulator of protein S-glutathionylation following oxidative and nitrosative stress / D. M. Townsend [et al.] // J. Biol. Chem. – 2009. – Vol. 284. – № 1. – P.: 436-445.
530. Novel Role for PD-1: PD-L1 as Mediator of Pulmonary Vascular Endothelial Cell Functions in Pathogenesis of Indirect ARDS in Mice / J. Lomas-Neira [et al.] // Front Immunol. 2018. – v. 9. – №3030. – doi: 10.3389/ fimmu. 2018. 03030
531. Nuclear accumulation of HSP70 in mouse skeletal muscles in response to heat stress, aging, and unloading with or without reloading / Apostolopoulos A. [et al.] // Front Genet. 2018. – v. 20 . – №9.– 617. doi: 10.3389/ fgene. 2018. 00617.
532. Oberringer, M. Differential expression of heat shock protein 70 in well healing and chronic human wound tissue / M. Oberringer, H.P. Baum, V. Jung // Biochem, Biophys. Res. Commun. 1995. – Vol. 214. – № 3. – P.: 1009-1014.
533. Oliynyk, S. Actoprotective effect of ginseng: improving mental and physical performance / S. Oliynyk, S. Oh // J Ginseng Res. 2013 .– Vol. 37. – № 2. – P. : 144-166.
534. Oliynyk, S. The pharmacology of actoprotectors: practical application for improvement of mental and physical performance / S. Oliynyk, S. Oh // Biomol. Ther. – 2012. – Vol. 20. – № 5. – P.: 446-456.
535. Onikienko S.B. Recombinant human Hsp70 and their long-acting derivatives serve as potent neuroprotectors in experimental decompression sickness and ischemic stroke animal models / S.B. Onikienko, A.V.Zemlyanoy, A.S. Svistov et al. // Proc VI Internat.Congr. “Heat Shock Proteins in Biology and Medicine”, 18-22 Aug 2013. – Sheffield, GB, 2013. – P. 31

536. Opal, S.M. Recombinant human activated protein C as a therapy for severe sepsis: lessons learned? / S.M. Opal, S.P. Larosa // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2013. – Vol. 187. – № 10. – P.: 1041-1043.
537. Optimized enzymatic dual functions of PaPrx protein by proton irradiation / C.H. Park [et al.]. // *J. Radiat. Res.* – 2013. – Vol. 54. – № 3. – P. : 1-8.
538. Oral administration of heat-killed *Lactobacillus brevis* SBC8803 ameliorates alcoholic liver disease in ethanol-containing diet-fed C57BL/6N mice / S. Segawa [et al.] // *Int J Food Microbiol.* 2008. – Vol. 128. – № 2. – P.: 371-377.
539. Oral administration of milk fermented with *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* FC protects mice against influenza virus infection / T. Maruo [et al.] // *Lett Appl. Microbiol.* 2012. – Vol. 55. – № 2. – P.: 135-40.
540. Oral glutamine protects against cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in experimental rats through increase of cardiac glutathione / V. Todorova [et al.] // *Nutrition* 2009. – Vol.25. – №7-8. – P.: 812-8177.
541. Organophosphate degrading micro-organisms and enzymes as biocatalysts in environmental and personal decontamination applications / S. Yair [et al.] // *Crit. Rev. Biotechnol* 2008.– Vol. 28. – № 4. – P. 265-275.
542. Organophosphorus compound esterase profiles as predictors of therapeutic and toxic effects / G.F. Makhaeva [et al.] // *Chem. Biol. Interact.* 2013. –Vol. 203, № 1. – P. 231-237.
543. Orrenius, S. Cell death mechanisms and their implications in toxicology / S. Orrenius, P. Nicotera, B. Zhivotovsky // *Toxicol Sci.* 2011. – Vol. 119, № 1. – P.: 3-19.
544. Oussedik-Oumehdi, H. Irradiated *Cerastes cerastes* venom as a novel tool for immunotherapy / H. Oussedik-Oumehdi, F. Laraba-Djebari // *Immunopharmacol.* 2008. – Vol. 30. –№ 1. – P.: 37-52.
545. Over-expression of gene encoding heat shock protein 70 from *Mycobacterium tuberculosis* and its evaluation as vaccine adjuvant / J. Dhakal [et al.] // *Indian J. Med.Microbiol.* 2013. – Vol. 31. – № 2. – P.: 123-129.

546. Overexpression of inducible 70-kDa heat shock protein in mouse improves structural and functional recovery of skeletal muscles from atrophy / E.H. Miyabara [et al.] // *Pflugers Arch.* 2012. – Vol. 463. – № 5. – P. 733-741.
547. Oxidative effects of nanosecond pulsed electric field exposure in cells and cell-free media / O.N. Pakhomova [et al.] // *Arch Biochem Biophys.* 2012. – Vol. 527. – № 1. – P. :55-64.
548. Oxman T. Oral administration of *Lactobacillus* induces cardioprotection / T. Oxman, M.Shapira, R. Klein // *J. Altern. Complement. Med.* 2001. – Vol. 7. – № 4, – P.: 345-354.
549. Pack, C.D. An intranasal heat shock protein based vaccination strategy confers protection against mucosal challenge with herpes simplex virus / C.D. Pack, M. Gierynska, B.T. Rouse // *Hum Vaccin.* – 2008. – Vol. 4, № 5. – P. 360-364.
550. Padmini E. Physiological adaptations of stressed fish to polluted environments: role of heat shock proteins // *Rev Environ Contam Toxicol.* 2010. – v. 206. – № 1. – doi: 10.1007/978-1-4419-6260-7_1.
551. Panossian A. Adaptogens exert a stress-protective effect by modulation of expression of molecular chaperones / A. Panossian [et al.] // *Phytomedicine.* 2009. – v. 16. – № 6-7. – P.: 617-622.
552. Parseghian M.H. Targeted heat shock protein 72 for pulmonary cytoprotection / M.H. Parseghian, S.T.Hobson , R.A. Richien // *Ann. NY Acad.Sci* 2016. – vol. 1374. –№1. –P.: 78-85
553. Particle-cell contact enhances antibacterial activity of silver nanoparticles [Электронный ресурс] / O. Bondarenko [et al.] // *PLoS One.*–2013.–V. 8. №5. – <http://www.plosone.org/article/info3Adoi2F10.13712Fjournal.pone.0064060>.
554. Pat Appl. №20090220585 US. Shestakov V.A. Biological Active Blood Serum Fraction S1-10. Methods for Producing It and Uses Thereof / V.A. Shestakov ; 2009. – 22 p.
555. Pat Appl. №20120030779 US. Benjamin, I.J. Compositions and methods for detecting, treating, or preventing reductive stress / I.J. Benjamin, N.S. Rajasekaran, T. P. Kennedy ; filed 18.01.2008 ; publ. 02.12.2009.

556. Pat. Appl. 09194394 [97,194,394] JP Jpn. Kokai Tokkyo Koho Torii K. Compositions for removal of harmful matter accumulation in fat tissue,. / K. Torii, M. Hyamashita ; Filed: 23.01.1996 ; Publ: 29.07.1997. – 12 p.
557. Pat. Appl. 10101704 [98101704] JP, Jpn. Kokai Tokkyo Koho. Kume T. Preparation of phytoalexin-inducing oligosaccharides by radiochemical degradation of polysaccharides /T. Kume,M. Shimazu, S. Matsuhushi ; Filed 01.10.1996 ; Publ. 21.04. 1998 . - 5 p.
558. Pat. 5779915 US. Becker A. Removal of chlorine and halogen-oxygen compounds from water by catalytic reduction / A. Becker [et al.] ; filed 03.07.1997 ; publ. 14.07.1998, 6 p.
559. Pat. Appl. 61287405 [86,287,405] JP, Jpn. Kokai Tokkyo Koho. Kito K. Apparatus for purification of tap water by freezing-thawing method / K. Kito ; filed 14.06.1985 ; publ. 17.12.1986.
560. Pat. 6273095 US. Hsu J.P. Cigarette filter which removes carcinogens and toxic chemicals / J.P. Hsu ; Filed 18.02.1999 ; Publ.: 14.08.2001, 28 p.
561. Pat. 7744926 US. Shestakov V.A. Use of a biologically active blood serum for the treatment of stroke / V.A. Shestakov; Filed 14.05.2006; Publ.: 29.06.2010
562. Pat. Appl. 20030181665 US. Olson M.A. Ricin vaccine and methods of making and using thereof / M. A. Olson, C. B. Millard, M. P. Byrne ; filed 27.02.2002 ; publ. 25.09.2003.
563. Pat. Appl. 20080102136 US. Koper O. Reactive nanoparticles as destructive adsorbents for biological and chemical contamination / O. Koper [et al.] ; Filed 02.01.2008 ; Publ. 01.05.2008.
564. Pat. Appl. 20100112013 US. Lee N.G. Adjuvant comprising oligonucleotide and non-toxic lipopolysaccharide / N.G. Lee [et al.] ; Filed 27.07.2005 ; Publ. 06.05.2010.
565. Pat.Appl. 2011/0293588 US. McCleary E.L. Metabolic uncoupling therapy / E.L. McCleary ; filed 04.08. 2011 ; publ. 01.12. 2011.

566. Pat. Appl. 201100077189 US. Vriesema A.J.M. Composition for stimulating natural killer cell activity / A.J.M. Vriesema [et al.] ; filed 30.01.2009 ; publ. 31.03.2011.
567. Pat. Appl. 20110123512 US. R.J.Morimoto Method of regulating of the heat shock response / R.I. Morimoto, V. Prahlad ; filed 08.10. 2010 ; publ. 26.05.2011.
568. Pat. Appl. 20110129484 US. Gelfand J.A. Immunotherapies imploing self-assembling vaccines / J.A. Gelfand [et al.] ; Filed. 17.04.2009 ; Publ. 9.02.2011.
569. Pat. Appl. 20110319595 US. Gudkov A.V. Related polypeptides and uses thereof / A.V. Gudkov ; Filed 18.05.2011 ; Publ. 29.12.2011.
570. Pat. Appl. 20120059920 US. Friedel A. Hydroxytyrosol benefits muscle differentiation and muscle contraction and relaxation / A. Friedel [et al.] ; Filed 12.07.2012 ; Publ. 07.03. 2013.
571. Pat. Appl. 20130253007 US. Kassis J.N. Compounds That Modulate Oxidative Stress / J.N. Kassis, J. C. Attucks, M.K. Kostura ; Filed 15.05.2013 ; Publ. 26.09.2013.
572. Pat. Appl. 20130324462 US. Gudkov A. Method of reducing the effects of chemotherapy using flagellin related polypeptides / A. Gudkov, V. Krivokrysenko, L. Burdelya ; Filed. 26.03.2013 ; Publ. 05.12.2013.
573. Pat. Appl. № 20110045554 US. Clark D.C. Heterologous expression of extremophile heat shock proteins and chaperones in microorganisms to increase tolerance to toxic injuries / D.S. Clark [et al.] ; Filed 26.02. 2008 ; Publ. 24.02. 2011.
574. Pat. Appl. №20050026272 US. Bonach G.I. Non-toxic immune stimulating enterotoxin compositions / G.I. Bonach ; Filed 20.08.2004 ; Publ. 03.02.2005.
575. Pat. Appl. 2013006076 US. Evgeniev M. The use of intranasally administered Hsp70 protein to treat neurodegenerative diseases / M. Evgeniev, E. Nudler, N. Bobkova ; Filed. 04.07.2011 ; Publ. 10.01.2013.
576. Pauluhn, J. Attempts to counteract phosgene-induced acute lung injury by instant high-dose aerosol exposure to hexamethylenetetramine, cysteine or glu-

- tathione / J. Pauluhn, C.X. Hai // *Inhal Toxicol.* 2011. – Vol.23. – №1. – P.: 58-64.
577. Petroske, E. Reduction in polychlorinated dibenzodioxin and dibenzofuran residues in hamburger meat during cooking / E. Petroske, R.G. Zaylskie, V.J. Feil // *J. Agric. Food. Chem.* 1998. – Vol. 46. – № 8. – P.: 3280-3284.
578. Pharmacological postconditioning with diazoxide attenuates ischemia/reperfusion-induced injury in rat liver / Tian, Y.S. [et al.] // *Exp. Ther. Med.* 2013. – Vol.5. – №4. – P.: 1169-1173.
579. Pharmacological preconditioning with erythropoietin attenuates the organ injury and dysfunction induced in a rat model of hemorrhagic shock / K.K. Nandra [et al.] // *Dis. Model. Mech.* 2013. – Vol. 6. – № 3. – P.: 701 -709.
580. Pica N. Toward a universal influenza virus vaccine: prospects and challenges / N. Pica, P. Palese // *Annu Rev Med.* 2013. – Vol. 64. – P.: 189-202.
581. A pilot clinical trial of a near-infrared laser vaccine adjuvant: safety, tolerability, and cutaneous immune cell trafficking / Gelfand J.A. [et al.] // *FASEB J.* 2019. – V.33. –№2. – P.: 3074-3081
582. Pilot study: Effects of drinking hydrogen-rich water on muscle fatigue caused by acute exercise in elite athletes / K. Aoki [et al.] // *Med. Gas Res.* 2012. – Vol. 2. – № 1. – P.: 12-15.
583. Pocley AG, Extracellular cell stress (heat shock) proteins-immune responses and diseases: an overview/ AG Pockley, B Henderson // *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2018.– vol.373.–№1738 pii: 20160522.doi:10.1098/ rstb. 2016. 0522.
584. Poljsak, B. The neglected significance of "antioxidative stress" [Электронный ресурс] / B. Poljsak, I. Milisav // *Oxid Med. Cell. Longev.* 2012. – Режим доступа: <http://www.hindawi.com/journals/omcl/2012/480895/>.
585. Positive feedback induced memory effect in ischemic preconditioning / J. Shi [et al.] // *J. Theor. Biol.* 2012. – Vol. 300. – P. :317-323.

586. Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins from the maternal diet may be associated with immunosuppressive effects that persist into early childhood / S.B. Stølevik [et al.] // *Food Chem Toxicol.* 2013. – Vol.51. – P.: 165-172.
587. Pretreatment with low-dose endotoxin prolongs survival from experimental lethal endotoxic shock: Benefit for lethal peritonitis by *Escherichia coli* / K. Kopanakis [et al.] // *Cytokine.* – 2013. – Vol 62. – № 3. – P. : 382-388.
588. Prevention of disuse muscle atrophy by dietary ingestion of 8-prenylnaringenin in denervated mice [Электронный ресурс] / R. Mukai [et al.] // *PLoS One.* 2012. – Vol. 7. – № 9. – Режим доступа: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0045048>.
589. Prevention, diagnosis, and treatment of the overtraining syndrome: joint consensus statement of the European College of Sport Science and the American College of Sports Medicine / R. Meeusen [et al.] // *Med . Sci. Sports Exerc.* – 2013. – Vol. 45, – № 1. – P.: 186-205.
590. Previous infection with virulent strains of Newcastle disease virus reduces highly pathogenic avian influenza virus replication, disease, and mortality in chickens/ M. Costa-Hurtado [et al.] // *Vet Res.* 2015. –v.46.–p.:97.doi: 10.1186/s13567-015-0237.
591. Prophylactic treatment with Toll-like receptor ligands enhances host immunity to avian influenza virus in chickens / A.I. Mallick [et al.] // *Vaccine.* 2012. – Vol. 30. –№ 30. – P.: 4524-4531.
592. Proteasome inhibition protects human peripheral blood mononuclear cells from radiation-induced oxidative stress / K. Stankova [et al.] // *Int. J. Radiat. Biol.* 2013. – Vol.89. – № 7. – P. : 493-500.
593. Protective effect of a molecular chaperone inducer, paeoniflorin, on the HCl- and ethanol-triggered gastric mucosal injury / M. Asai [et al.] // *Life Sci.* – 2011. – Vol. 88. – № 7-8. – P.: 350-357.

594. Protective effect of ginsenoside-Rb2 from Korean red ginseng on the lethal infection of haemagglutinating virus of Japan in mice / YC Yoo [et al.] // *J. Ginseng Res.* 2013. – Vol. 37. – № 1. – P. : 80-86.
595. Protective effect of Korean red ginseng extract on the infections by H1N1 and H3N2 influenza viruses in mice / D.G. Yoo [et al.] // *J. Med. Food.* 2012. – Vol. 15. – №10. – P. : 855-862.
596. Protective effects of carboxyfullerene in irradiated cells and BALB/c mice / J. Cui [et al.] // *Free Radic. Res.* 2013. – Vol. 47. – № 4. – P.: 301-318.
597. Protective efficacy of immunoglobulins Y prepared against Cerastes cerastes snake venom in the Kingdom of Saudi Arabia / I.M. Moussa [et al.] // *Saudi Med. J.* 2012. – Vol. 33. – № 8. – P.: 846-851.
598. Puzstai, A. Even S.W.B. Use of plant lectins in bioscience and biomedicine / A. Puzstai, S. Bardocz // *Front. Biosci.* 2008. – Vol. 13. – P.: 1130-1140.
599. Pyrrolidine dithiocarbamate modulates HSP70, iNOS, and apoptosis during hemorrhagic shock resuscitation in rats / P. Cotogni [et al.] // *J. Invest. Surg.* 2010. – Vol. 23. – № 6. – P.: 295 - 302.
600. Qu L High-Mobility Group Box 1 (HMGB1) and Autophagy in Acute Lung Injury (ALI) / L Qu et. al. // *Med Sci Monit.* 2019. – V.25 –P.: 1828-1837. doi: 10.12659/MSM.912867.
601. Quing L. Benefits of hyperbaric oxygen treatment for decompression sickness in Bama pigs/ L Quing e al // *J.Exp. Biol.* 2018.-V.221(Pr5) .– Doi: 10.1242/jeb 171066
602. Quinlan, RA. Chaperones: needed for both the good times and the bad times [Электронный ресурс] / RA. Quinlan, RJ. Ellis // *Philos. Trans. Royal Soc. Lond. (B Biol. Sci.)*. 2013. – Vol. 368. –№ 1617. – Режим доступа: <http://rstb.royalsocietypublishing.org/content/368/1617/20130091.full.pdf>.
603. Radiation induced stress proteins / M. Gehrman [et al.] // *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* 2010. – Vol. 48. –№7. – P.: 492-493.
604. Radioprotection by the histone deacetylase inhibitor phenylbutyrate / A.C. Miller [et al.]. // *Radiat Environ. Biophys.* – 2011. – Vol. 50, № 4. – P. 585-596.

605. Radioprotective effect of American ginseng on human lymphocytes at 90 minutes postirradiation: a study of 40 cases / T.K. Lee [et al.] // *J. Altern. Complement. Med.* 2010. – Vol. 16. – № 5. – P.: 561-567.
606. Radioprotective effects of an acidic polysaccharide of *Panax ginseng* on bone marrow cells / H.J. Kim [et al.] // *J. Vet. Sci.* 2007. – Vol.8. – № 1.– P. 39-44.
607. Radioprotective potential of histamine on rat small intestine and uterus [Электронный ресурс] / Carabajal E. [et al.] // *Eur. J. Histochem.* 2012. – Vol. 56. – № 4. – Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23361244>.
608. Radioprotectors and mitigators of radiation-induced normal tissue injury / C. Citrin [et al.] // *Oncologist.* 2010. – Vol. 15. – № 4. – P.: 360-371.
609. Rapid detection of bacterial resistance to antibiotics using AFM cantilevers as nanomechanical sensors / G. Longo [et al.] // *Nat Nanotechnol.* 2013. – Vol. 8. – № 7. – P. :522-526.
610. Recombinant heat shock protein 60 (Hsp60/GroEL) of *Salmonella enterica* serovar Typhi elicits cross-protection against multiple bacterial pathogens in mice / S.T. Chitradevi [et al.] // *Vaccine.* 2013.– v. 31. – №16.– P.: 2035-2041.
611. Recombinant human butyrylcholinesterase as a new-age bioscavenger drug: development of the expression system / D.G. Ilyushin [et al.] // *Acta Naturae.* 2013. – Vol. 5. – № 1. – P. 73-84.
612. Recombinant IgG2a Fc (M045) multimers effectively suppress experimental autoimmune myasthenia gravis / M. Thiruppathi [et al.] // *J. Autoimmun.* 2014. – № 1. – P.161-163.
613. Red (660 nm) and infrared (830 nm) low-level laser therapy in skeletal muscle fatigue in humans: what is better? / P. de Almeida [et al.] // *Lasers Med. Sci.* 2012. – Vol. 27. –№ 2. – P.: 453-458.
614. Redistribution of accumulated 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin during coxsackievirus B3 infection in the mouse / E. Funseth [et al.] // *Toxicol Lett.* 2000. – Vol. 116. – № 1-2. – P. :131-141.

615. Reduction of the toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in mice using an antiulcer drug, geranyl-geranylacetone / T. Ishida [et al.] // *Biol. Pharm. Bull.* 2004. – Vol. 27. – № 9. – P.: 1397-402.
616. Regulation by Resveratrol of the Cellular Factors Mediating Liver Damage and Regeneration after Acute Toxic Liver Injury / C.C. Chan [et al.] // *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2014. – Vol. 29. – № 2. – P.: 198-204.
617. Regulation of human natural cytotoxicity by IgG. IV. Association between binding of monomeric IgG to the Fc receptors on large granular lymphocytes and inhibition of natural killer (NK) cell activity/ A. Sulica [et al.] // *Cell Immunol.* 1993. – Vol.147. – №2. – P. :397-410.
618. Relationship between HMGB1 and tissue protective effects of HSP72 in a LPS-induced systemic inflammation model /A. Hasegawa [et al.] // *J. Surg. Res.* 2011. – Vol. 169. – № 1. – P.: 85-91.
619. Resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) protects pregnant mother and fetus from the immunotoxic effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin / N.P. Singh [et al.] // *Mol. Nutr. Food Res.* 2011. – Vol. 55. – № 2. – P.: 209-219.
620. Resveratrol attenuates cisplatin renal cortical cytotoxicity by modifying oxidative stress / M.A. Valentovic [et al.]. // *Toxicol. In Vitro.* 2014. – Vol. 28. – № 2. – P. : 248-257.
621. Resveratrol protects against polychlorinated biphenyl-mediated impairment of glucose homeostasis in adipocytes / N.A. Baker [et al.] // *J. Nutr. Biochem.* – 2013. – Vol. 24. – № 12. – P.: 2168-2174.
622. Reverse Effects of DPI administration combined with glutamine supplementation on function of rat neutrophils induced by overtraining / J. Dong [et al.] // *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* 2013. – Vol. 23. – № 2. – P.: 137-149.
623. Riehl, T.E. Hyaluronic acid is radioprotective in the intestine through a TLR4 and COX-2-mediated mechanism / T.E. Riehl, L. Foster, W.F. Stenson // *Am J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2012. – Vol. 302. – № 3. – P.: G309-G316.

624. Role of heat shock proteins in gastric inflammation and ulcer healing / S.R. Choi [et al.] // *J Physiol Pharmacol.* 2009. – Vol. 60. – № 7. – P.: 5-17.
625. Roufayel R. Molecular Chaperone HSP70 and Key Regulators of Apoptosis - A Review. R Roufayel, S Kadry/ *Curr Mol Med* 2019. – v.19. – №5. – P.: 315-325
626. Russell C.J. Sendai virus as a backbone for vaccines against RSV and other human paramyxoviruses / C.J. Russell , J.L. Hurwitz // *Expert Rev Vaccines.* 2016. – v. 15. – № 2.– P.:189-200.
627. Sajjadi A.Y. Expression of heat shock proteins 70 and 47 in tissues following short-pulse laser irradiation: assessment of thermal damage and healing / A.Y. Sajjadi, K. Mitra, M. Grace // *Med. Eng. Phys.* 2013. – Vol. 35, № 10. – P.: 1406-1414.
628. San Segundo L. Gene expression responses for detecting sublethal effects of xenobiotics and whole effluents on a *Xenopus laevis* embryo assay / L. San Segundo, F. Martini, M.V. Pablos // *Environ. Toxicol. Chem.* 2013. – Vol. 32. – № 9. – P.: 2018-2025.
629. Sanadgol, H. Levamisole usage as an adjuvant to hepatitis B vaccine in hemodialysis patients, yes or no? / H. Sanadgol // *Nephrourol Mon.* 2013. – Vol. 5. – № 1. – P. 673-678.
630. Sanchis-Gomar F. Erythropoietin receptor agonist is used to treat a wide range of disease / F. Sanchis-Gomar, C. Perez-Quilis, G. Lippi // *Mol. Med.* 2013. – Vol. 19. – P. : 62 - 64.
631. Saxena S. Augmentation of aerobic respiration and mitochondrial biogenesis in skeletal muscle by hypoxia preconditioning with cobalt chloride / S. Saxena, D. Shukla, A. Bansal // *Toxicol. Appl.Pharmacol.* 2012. – Vol 264. – №3. – P.: 324-334.
632. Schmid T.E. Radiation-induced stress proteins - the role of heat shock proteins in antitumor responses / T.E. Schmid, G. Multhoff // *Curr Med Chem.* 2012. – Vol. 19. – № 12. – P.: 1765-1770.

633. Schmidt R. Carbon monoxide--toxicity of low-dose application / R. Schmidt, H. Ryan, A. Hoetzel // *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2012. – Vol.13. – № 6. – P.: 837-850.
634. Schoenfeld B.J. Potential mechanisms for a role of metabolic stress in hypertrophic adaptations to resistance training / B.J. Schoenfeld // *Sports Med.* 2013. – Vol.43. – №3. – P.: 179-194.
635. Schroeder S. Impaired inducibility of heat shock protein 70 in peripheral blood lymphocytes of patients with severs sepsis / S. Schroeder, C. Lindemann, A. Hoeft // *Crit. Care Med.* 1999. – Vol. 27. – № 6. – P.: 1080-1084.
636. Schwartz D.A. TLR4 and LPS hyporesponsiveness in humans / D.A. Schwartz // *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 2002. – Vol. 205. – № 3. – P.: 221 - 227.
637. Sena L.A. Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen species / L.A. Sena, N.S. Chandel // *Mol. Cell.* 2012 – Vol. 48. – № 2. – P. :158-167.
638. Serum High-Mobility-Group Box 1 as a biomarker and a therapeutic target during respiratory virus infections / M.C. Patel [et al.] // *MBio.* 2018. – v.9. – №2. pii: e00246-18. doi: 10.1128/mBio.00246-18.
639. Serum levels of HSP70 and other DAMP proteins can aid in patient diagnosis after traumatic injury / B.Ren [et al.] // *Cell Stress Chaperones.* 2016. – v. 21. – № 4. – P.: 677-686.
640. Shao A The role and therapeutic potential of heat shock proteins in haemorrhagic stroke / A Shao et. al // *J. Cel.l Mol. Med.* 2019. – v.23. –№9. – P. : 5846-5858
641. Sharma R. Emodin, an anthraquinone derivative protects against gamma radiation induced toxicity by inhibiting DNA damage and oxidative stress / R. Sharma, A. B. Tiku // *Int. J. Radiat. Biol.* 2014. –Vol. 90. – № 2. – P.: 121-127.
642. Shearer A.E. High hydrostatic pressure for development of vaccines / A.E. Shearer , K.E. Kniel // *J. Food Prot.* 2009. – Vol. 72. – № 7. – P. :1500-1508.

643. Shichijo K. Overexpression of heat shock protein 70 in stomach of stress-induced gastric ulcer-resistant rats / K. Shichijo, M. Ihara, M. Matsuu // *Dig. Dis .Sci.* 2003. – Vol. 48. – №2. – P.: 340-348.
644. Shimoyama T. Characteristics of attenuating effects of rebamipide, an anti-ulcer agent, on oxidative burst of human neutrophils / T. Shimoyama, S. Fukuda, T. Liu // *J.Pharmacol. Sci.* 2003. – Vol.91. – № 2. – P.: 153-157.
645. Shin, V.Y. Cigarette smoke extracts delay wound healing in the stomach: involvement of polyamine synthesis / V.Y. Shin, E.S. Liu, M.W. Koo // *Exp Biol Med (Maywood)*. 2002. – Vol.227. – №2. – P.: 114-124.
646. Silica nanorattle with enhanced protein loading: a potential vaccine adjuvant / T. Liu [et al.] // *J. Colloid Interface Sci.* 2013. – Vol. 400. – P.: 168-174.
647. Silver enhances antibiotic activity against gram-negative bacteria / J.R. Morones-Ramirez [et al.] // *Sci Transl Med.* 2013.– Vol. 5. – №190.– P.: 81-90.
648. Slezak, B.P. Oxidative stress in female B6C3F1 mice following acute and subchronic exposure to 2,3,7,8-tetra-chlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) / B.P. Slezak, GE Hatch, M.J. DeVito // *Toxicol. Sci.* 2000.– Vol.54. –№2.– P.: 390-398.
649. Smallshaw, J.E. Ricin vaccine development / J.E. Smallshaw, E.S. Vitetta // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2012. – Vol.357. – P. : 259-272.
650. Smith, SW. Paradoxical and bidirectional drug effects / SW. Smith, M. Hauben, JK. Aronson // *Drug Saf.* 2012. – Vol.35. – №3. – P.: 173-189
651. Smith, W.J. Medical defense against blistering chemical war-fare agents / W.J. Smith, M.A. Dunn // *Arch. Dermatol.* 1991.– Vol.127. – №8.– P. : 1207–1213.
652. Snyman, M. Modulation of heat shock factors accompanies salicylic acid-mediated potentiation of Hsp70 in tomato seedlings. // M.Snyman, M.J. Cronjé // *J. Exp. Bot.* 2008. – Vol.59, №8. – P. 2125-2132.
653. So E.C. NK cell expression of Tim-3: First impressions matter / E.C. So et. al. // *Immunobiology.* 2019. – v. 224. – N 3. – P.: 362-370

654. Sodium butyrate prevents lethality of severe sepsis in rats / L.T. Zhang [et al.] // *Shock*. 2007. – Vol. 27. – № 6. – P.: 672-677.
655. Sodium orthovanadate (vanadate), a potent mitigator of radiation-induced damage to the hematopoietic system in mice / B. Wang [et al.] // *J. Radiat. Res.* 2013. – Vol. 54. – № 4. – P. : 620-629.
656. Solivellas, B.M. Polypodium leucotomos Extract use to prevent and reduce the risk of infectious diseases in high performance athletes / B.M. Solivellas, T.C. Martín // *Infect. Drug Resist.* 2012. – №5. – P.149-53.
657. Solution-based circuits enable rapid and multiplexed pathogen detection [Электронный ресурс] / B. Lam [et al.] // *Nature Communications* 2013.– Vol. 4.–Режим доступа <http://www.nature.com/ncomms/2013/130612/ncomms3001/full/ncomms3001.html>.
658. Song D.U. Effect of rebamipide on the glycosaminoglycan content of the ulcerated rat stomach / D.U. Song, M.H. Ryu, K.O. Chay // *Fundam. Clin. Pharmacol.* 1998. – Vol.12. – № 5. – P.: 546-552.
659. Sonneborn, J.S. Mimetics of hormetic agents: stress-resistance triggers / J.S. Sonneborn // *Dose Response*. 2010. – Vol.8. – №1. – P.: 97-121.
660. Sontag, W. Expression of heat shock proteins after ultrasound exposure in HL-60 cells / W. Sontag, IL. Kruglikov // *Ultrasound Med. Biol.* 2009. – Vol.35. – №6. – P.: 1032-1041.
661. Stancek, D. Links between prolonged exposure to xenobiotics, increased incidence of hepatopathies, immunobiological disturbances and exacerbation of latent Epstein-Barr virus infections/ D. Stancek, G. Kosecka, M. Oltman // *Int. J. Immunopharmacol.* 1995. – Vol.17. – №.4. – P. :321-328.
662. Stimulation of gastric ulcer healing by heat shock protein 70 / T. Ishihara [et al.] // *Biochem Pharmacol.* 2011. – Vol. 82. – № 7. – P.: 728-736.
663. Strength training session induces important changes on physiological, immunological and inflammatory biomarkers / A.K. Fortunato [et al.] // *J. Immunol Res.* 2018. – doi: 10.1155/2018/9675216

664. Studies on production of fructooligosaccharides (FOS) by gamma radiation processing of microbial levan // N. Jalan [et al.] // Carbohydr Polym. 2013. – Vol.96. – №1. – P. : 365-370.
665. Strumwasser A Attenuation of endothelial phosphatidylserine exposure decreases ischemia-reperfusion induced changes in microvascular permeability / A. Strumwasser, A Bhargava, GP Victorino // J Trauma Acute Care Surg. 2018. – v. 84. – N 6.- P.:838-846
666. Subchronic/ chronic toxicity of 1,2,3,4,6,7,8-heptachlordibenzo-p-dioxin (HpCDD) in rats. Part II. Biochemical effects / M. Viluksela [et al.] // Toxicol. Appl. Pharmacol. 1997. – Vol. 146. – № 2. – P. : 217-226.
667. Sulfur mustard induces an endoplasmic reticulum stress response in the mouse ear vesicant model / Y.C. Chang [et al.] // Toxicol. Appl. Pharmacol. 2013. – Vol. 268. – № 2. – P. : 178-187.
668. Sung, Y.Y. Enhancement of Hsp70 synthesis protects common carp, *Cyprinus carpio* L., against lethal ammonia toxicity / Y.Y. Sung, R.J. Roberts, P. Bossier //J. Fish. Dis. 2012. – Vol.35. – №8. – P.: 563-568.
669. Superoxide radicals have a protective role during H₂O₂ stress / GW Thorpe [et al.]. // Mol Biol Cell. 2013. – Vol. 24. – P.: 2876-2884.
670. Suppression of alkylating agent induced cell transformation and gastric ulceration by low-dose alkylating agent pretreatment / A. Onodera [et al.] // Biochem.Biophys. Res.Comm. 2013. – Vol. 435. – № 4. – P.: 714-719.
671. Surface functionalized amorphous nanosilica and microsilica with nanopores as promising tools in biomedicine / A. Rahman [et al.] // Naturwissenschaften. – 2009. – Vol. 96. – № 1. – P.: 31-38.
672. Surh, YJ. Xenohormesis mechanisms underlying chemopreventive effects of some dietary phytochemicals / YJ. Surh. – New York Acad. Sci., 2011. – Vol. 1229. – P.: 1-6.
673. Synergy and antagonism of active constituents of ADAPT-232 on transcriptional level of metabolic regulation of isolated neuroglial cells / A.

- Panossian [et al.]. [Электронный ресурс] // Front Neurosci. 2013. – Vol.7. Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23430930>.
674. A systems biology approach to investigating the influence of exercise and fitness on the composition of leukocytes in peripheral blood/ M.P.Gustafson [et al.] // J. Immunother. Cancer. 2017. – v.5. –P.:30. – doi: 10.1186/s40425-017-0231-8..
675. Systemic involvement of high-mobility group box 1 protein and therapeutic effect of anti-high-mobility group box 1 protein antibody in a rat model of crush injury / J. Shimazaki [et al.] // Shock. 2012. – Vol.37. – №6. – P.: 634-638.
676. Systemic involvement of high-mobility group box 1 protein and therapeutic effect of anti-high-mobility group box 1 protein antibody in a rat model of crush injury / J. Shimazaki [et al.] // Shock. 2012. – Vol. 37, № 6. – P. 634 - 638.
677. Szeto, A.L. Rapid induction of protective tolerance to potential terrorist agents: a systematic review of low- and ultra-low dose research / A.L. Szeto, F. Rollwagen, W.B. Jonas // Homeopathy. 2004. – Vol.93. – №4. – P.: 173-178.
678. Terasaki, Y. Hydrogen therapy attenuates irradiation-induced lung damage by reducing oxidative stress / Y. Terasaki, I. Ohsawa, M. Terasaki // Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 2011. – Vol. 301. – P.: L415–L426.
679. The aqueous extract of a popular herbal nutrient supplement, *Angelica sinensis*, protects mice against lethal endotoxemia and sepsis / H. Wang [et al.] // J. Nutr. 2006. – Vol. 136. – №2. – P. : 360-365.
680. The disaster in Japan: utility of melatonin in providing protection against ionizing radiation / R.J. Reiter [et al.] // J. Pineal Res. 2011. – Vol. 50. – P.: 357–358.
681. The effect of glutamine infusion on the inflammatory response and HSP70 during human experimental endotoxemia / A.S. Andreasen [et al.] // Crit Care. 2009. – Vol. 13. – № 1. – P.: 7.
682. The exercise-induced stress response of skeletal muscle, with specific emphasis on humans / J.P. Morton [et al.] // Sports Med. – 2009. – Vol. 39. – № 8. – P. 643 - 662.

683. The polyhydroxylated fullerene derivative C₆₀(OH)₂₄ protects mice from ionizing-radiation-induced immune and mitochondrial dysfunction / X. Cai. [et al.] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2010. – Vol. 243. – № 1. – P.: 27-34.
684. The release of immunosuppressive factor(s) in young males following exercise / Y. Tian [et al.] // *Sensors (Basel)*. 2012. – V.12. – №5. – P.: 5586-5595.
685. The therapeutic efficacy of glutamine for rats with smoking inhalation injury / W. Li, X. Qiu, J. Wang, Y. Sun // *Int. Immunopharmacol.* 2013. – Vol.16. – №2. – P.: 248-253.
686. Theofilidis G. Monitoring exercise-induced muscle fatigue and adaptations: making sense of popular or emerging indices and biomarkers / G. Theofilidis [et al.] // *Sports (Basel)*. 2018. –V.6.–№ 4. – doi: 10.3390/ sports 6040153.
687. TLR Stimulation during T-cell Activation Lowers PD-1 Expression on CD8 T Cells / C.D. Zahm [et al.] // *Cancer Immunol Res.* 2018 –V. 6. – №11. – P.: 1364-1374.
688. The TLR4 antagonist Eritoran protects mice from lethal influenza infection / K.A. Shirey [et al.] // *Nature*. – 2013. – Vol.497. – №7450. – P.: 498-502.
689. TLR4 antagonist FP7 inhibits LPS-induced cytokine production and glycolytic reprogramming in dendritic cells, and protects mice from lethal influenza infection / L. Perrin-Cocon [et al.] // *Sci Rep.* 2017. – v. 7. – № 40791. – doi: 10.1038/srep40791.
690. Toll-like receptors and radiation protection / Z.Liu [et al.] // *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2018. – v. 22. – № 1. – P.: 31-39.
691. Tomino A Increased PD-1 Expression and Altered T Cell Repertoire Diversity Predict Mortality in Patients with Septic Shock: A Preliminary Study / A Tomino et. al. // *PLoS One.* 2017. – v. 12. – N 1: e0169653. doi: 10.1371 /journal.pone.0169653
692. The transcriptional heat shock response of *Salmonella typhimurium* shows hysteresis and heated cells show increased resistance to heat and acid stress / C. Pin [et al.] // *PLoS One.* 2012. – Vol.7, №12. –P.: E-51196-E51205.

693. The use of nanolipoprotein particles to enhance the immunostimulatory properties of innate immune agonists against lethal influenza challenge / D.R. Weilhammer [et al.] // *Biomaterials*. 2013.– Vol. 34.– № 38. – P.: 10305-10318.
694. Therapeutic effect of intravenous infusion of perfluorocarbon emulsion on LPS-induced acute lung injury in rats / S Hou [et al.] // *PLoS One*. 2014. – Vol.9. – №1. – P: 87826-87838.
695. Thymoquinone Rescues T Lymphocytes from Gamma Irradiation-Induced Apoptosis and Exhaustion by Modulating Pro-Inflammatory Cytokine Levels and PD-1, Bax, and Bcl-2 Signaling ./ M.S. Guida [et al.]// *Cell Physiol Biochem*. 2016. –v.38. – №2. – P.:786-800.
696. Timing and distribution of protein ingestion during prolonged recovery from resistance exercise alters myofibrillar protein synthesis / J.L. Areta [et al.] // *J. Physiol*. 2013. – Vol. 591, Pt. 9. – P. : 2319-2331.
697. TLR4 is essential Hsp70-like protein 1 (Hsp70L1) to activate dendritic cells and induce Th1 response / H. Fang [et al.] // *J. Biol. Chem*. 2011 – V. 286. – №32. – P.: 26267-26282.
698. TLR4 Signaling Pathway Modulators as Potential Therapeutics in Inflammation and Sepsis / N.N. Kuzmich [et al.] // *Vaccines (Basel)*. 2017.–v. 5.– № 4. – doi: 10.3390/vaccines 5040034
699. Toll-like receptor 4 mediates acute lung injury induced by high mobility group box-1 [Электронный ресурс] / Y. Deng [et al.] // *PLoS One*. 2013. - Vol.8, №5. - Режим доступа: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0064375>.
700. Tomljenovic L. Aluminum vaccine adjuvants: are they safe? / L. Tomljenovic, C.A. Shaw // *Curr Med Chem*. 2011.– Vol.18.– № 17.– P.: 2630-2637.
701. Toshkov I.A. Mitigation of radiation-induced epithelial damage by the TLR5 agonist entolimod in a mouse model of fractionated head and neck irradiation /I.A.Toshkov et al.// *Radiat.Res*. 2017. – vol.187. –№5. – P.: 570-580.

702. Toussaint S. Immunoglobulins in adult sepsis and septic shock / S. Toussaint, H. Gerlach // *Curr. Infect. Dis. Rep.* 2012. – Vol.14.– №5.– P. : 522-529.
703. Trace analysis of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and WHO polychlorinated biphenyls in food using comprehensive two-dimensional gas chromatography with electron capture detection / C. Danielsson [et al.] // *J. Chromatogr.* 2005. – Vol. 1086. – № 1-2. – P.: 61-70.
704. Transgenic overexpression of heat shock protein 72 in mouse muscle protects against exhaustive exercise-induced skeletal muscle damage / C.C. Liu [et al.] // *J. Formos Med. Assoc.* 2013. – Vol. 112. – № 1. – P.: 24-30.
705. Trauma-induced long-term alterations of human T cells and monocytes—results of an explorative, cross-sectional study / S. Ruhrmann [et al.] // *Shock.* 2019. – doi: 10.1097/ SHK.0000000000001358.
706. Treatment with the catalytic metalloporphyrin AEOL 10150 reduces inflammation and oxidative stress due to inhalation of the sulfur mustard analog 2-chloro-ethyl ethyl sulfide / H.C. O'Neill [et al.] // *Free Radic Biol Med.* 2010. – Vol. 48. – № 9. – P.: 1188-1196.
707. Tsan, M.F. Heat shock proteins and immune system / M.F. Tsan, B. Gao // *J. Leukoc. Biol.* 2009. – Vol. 85. – №6. – P.: 905-910.
708. Tuediev A. A peptide from *Retsudo horsfieldii* tortoise spleen as potential helper for reducing acute radiation syndrome / A. Turdiev [et al.] // *J. Pept. Sci.* 2019: e3202.doi: 1002.3202
709. Ulinastatin reduces pathogenesis of phosgene-induced acute lung injury in rats / J. Shen [et al.] // *J. Toxicol Ind. Health.* 2013. – Vol. 29. – №9. – P.:9-15
710. Ultrasonic irradiation of bacterial polysaccharides. Characterization of the depolymerized products and some applications of the process / S.C. Szu [et al.] // *Carbohydr Res.* 1986. – Vol.152. – P.: 7-20.
711. Ultrasonicated *Enterococcus faecium* SF68 enhances neutrophil free radical production and udder innate immunity of drying-off dairy cows / H.Y. Peng [et al.] // *J. Dairy Res.* 2013. – Vol. 80. – №3. – P.: 349-359.

712. Ultrasound effects on the degradation kinetics, structure and rheological properties of apple pectin / L. Zhang [et al.] // *Ultrason Sonochem.* 2013.– Vol. 20. – №1. – P. : 222-231.
713. Upregulation of cytoprotective defense mechanisms and hypoxia-responsive proteins imparts tolerance to acute hypobaric hypoxia / K. Jain [et al.] // *High Alt. Med. Biol.* 2013. – Vol.14. – № 1. – P.: 65-77.
714. Ursolic acid attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in a mouse model / X. Chen [et al.] // *Immunotherapy.* 2013.– Vol. 5.– № 1. – P.: 39-47.
715. Vaccination with Recombinant Parainfluenza Virus 5 Expressing Neuraminidase Protects against Homologous and Heterologous Influenza Virus Challenge / A.J. Mooney [et al.] // *J Virol.* 2017. – v. 91.– № 23. – pii: e01579-17. – doi: 10.1128/JVI.01579-17.
716. Vallarino, J.G. Signaling role of oligogalacturonides derived during cell wall degradation / J.G.Vallarino, S. Osorio // *Plant Signal. Behav.* 2012.– Vol.7. – № 11. – P. : 1447-1449.
717. Valproic acid for the treatment of hemorrhagic shock: a dose-optimization study / J.O Hwabejire [et al.] // *J. Surg. Res.* 2014. – Vol. 186. – № 1. – P. 363 - 370.
718. Van Molle, W. HSP70 Protects against TNF-induced lethal inflammatory shock / W. Van Molle, B. Wielockx, T. Mahieu // *Immunity* 2002. – Vol.16. – P. 685-695.
719. Vanhoecke, B. The prenylated chalcone xanthohumol induces unfolded protein response, autophagy and cell death in breast cancer cells by proteasome inhibition / B. Vanhoecke // *Proc. 2nd Internat. Humulus Symposium, 1-5 Sept 2008.* – Ghent, Beldgium, 2008. – P. 127.
720. Vetvicka, V. Glucan–resveratrol–vitamin C combination offers protection against toxic agents / V.Vetvicka, J.Vetvickova // *Toxins.* 2012. – Vol. 14. – №1. – P.: 1301-1308.

721. Virus wars: using one virus to block the spread of another / M.L. Paff [et al.] // Peer J. 2016. – v. 4. – doi: 10.7717/peerj.2166
722. Vilcáez, J. Inhibitory effect of gamma-irradiated chitosan on the growth of denitrifiers / J. Vilcáez, T. Watanabe // Int. J. Microbiol. 2009 – Vol. 41.– P.: 85-95.
723. Vojtek I. Would immunization be the same without cross-reactivity? / I.Vojtek [et al.] // Vaccine. 2019. – v. 37. – № 4. – P.:539-549.
724. Walton, JR. Cognitive deterioration and associated pathology induced by chronic low-level aluminum ingestion in a translational rat model provides an explanation of Alzheimer's disease, tests for susceptibility and avenues for treatment [Электронный ресурс] / JR. Walton // Int. J. Alzheimers Dis. – 2012. – Режим доступа: <http://www.hindawi.com/journals/ijad/2012/914947>.
725. Ward, N.S. The compensatory antiinflammatory response syndrome (CARS) in critically ill patients / N.S. Ward, B. Casserly, A. Ayala // Clin. Chest Med. 2008. – Vol. 29. – №4. – P.: 617-625.
726. Watanabe E. Immunoadjuvant therapy in sepsis: novel strategies for immunosuppressive sepsis coming down the pike / E.Watanabe, L.K. Thampy, R.S. Hotchkiss. // Acute Med Surg. 2018. – v. 5. – № 4. – P.: 309-315.
727. Whey protein hydrolysate enhances the exercise-induced heat shock protein (HSP70) response in rats /C.S. de Moura [et al.] // J. Food Chem. 2013. – Vol. 136. – № 3-4. – P.: 1350-1357.
728. Whitham, M. Effect of caffeine supplementation on the extracellular heat shock protein 72 response to exercise / M. Whitham, G.J. Walker, N.C. Bishop // J. Appl. Physiol. 2006. – Vol. 101. – № 4. – P.: 1222-1227.
729. Wischmeyer, P.E. Glutamine attenuates tumor necrosis factor-alpha release and enhances heat shock protein 72 in human peripheral blood mononuclear cells / P.E. Wischmeyer, J. Riehm, K.D. Singleton // Nutrition. 2003. – Vol. 19. – №1. – P.: 1-6.

730. Wolfe, D.N. Current biodefense vaccine programs and challenges / D.N. Wolfe, W. Florence, P. Bryant // *Hum Vaccin Immunother.* 2013. – Vol. 9. – № 7. – P.: 1-7.
731. Xenon preconditioning: molecular mechanisms and biological effects [Электронный ресурс] / W. Liu [et al.] // *Med. Gas Res.* 2013. – Vol. 3, № 1. – Режим доступа: <http://www.medicalgasresearch.com/content/3/1/3>.
732. Xia Q. Immune Checkpoint Receptors Tim-3 and PD-1 Regulate Monocyte and T Lymphocyte Function in Septic Patients / Q Xia et. al. // *Mediators Inflamm.* 2018. – doi: 10.1155/2018/1632902
733. Xiao, L. Acupuncture: another new adjuvant in vaccine research / L. Xiao, H. Wang // *Zhongguo Zhen Jiu.* –2012. – Vol. 32. – № 12. – P.: 1124-1126.
734. Xu, J. Effects of salidroside on exhaustive exercise induced oxidative stress in rats / J. Xu, Y. Li // *Mol Med Report.* 2012. – Vol. 6. – №5.– P.: 1195-1198.
735. Xue, J. Therapeutic vaccines against hepatitis C virus / J. Xue, H. Zhu, Z. Chen // *Infect. Genet. Evol.* 2014. – Vol. 22 (C.)–P. :120-129.
736. Yang C, Gao X, Gong R. Engineering of Fc Fragments with Optimized Physicochemical Properties Implying Improvement of Clinical Potentials for Fc-Based Therapeutics/ C. Yang , X. Gao, R. Gong // *Front Immunol.* 2018. – v. 8: 1860. doi: 10.3389/fimmu.2017.01860
737. Yin, S.Y. Protective effect of dietary xylitol on influenza A virus infection [Электронный ресурс] / S.Y. Yin, H.J. Kim, H.J. Kim // *PLoS One.* 2014. – Vol. 9. –№ 1.– Режим доступа: [http://www.plosone.org/article/info %3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0084633](http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0084633).
738. Yong-xin, X. Evaluation of anti-fatigue activity of total saponins of *Radix notoginseng* / X. Yong-xin, Z. Jian-jun // *Indian J Med Res.* 2013. – Vol.137. – №1. – P. : 151-155.
739. Zahm CD TLR Stimulation during T-cell Activation Lowers PD-1 Expression on CD8+ T Cells / CD Zahm et. al. // *Cancer Immunol Res.* 2018. – v. 6. – N 11. – P.:1364-1374

740. Zaltoprofen prevents carbon tetrachloride-induced reduction of body weight in rats / T. Okamoto [et al.] // *Int. J. Mol. Med.* 2001. – Vol. 7. – № 1. – P. : 101-104.

741. Zerumbone, an electrophilic sesquiterpene, induces cellular proteostress leading to activation of ubiquitin-proteasome system and autophagy / K. Ohnishi [et al.] // *Biochem Biophys. Res. Commun.* 2013. – Vol. 430. – № 2. – P. : 616-622.

742. Zhang, C. Restoration of chaperone-mediated autophagy in aging liver improves cellular maintenance and hepatic function / C. Zhang, AM. Cuervo // *Nat Med.* 2008. – Vol. 14. – № 9. – P.: 959-965.

743. Zhang Q. Programmed Cell Death-1/Programmed Death-Ligand 1 blockade improves survival of animals with sepsis: a systematic review and meta-analysis / Q. Zhang [et al.] // *Biomed Res Int.* 2018:1969474. doi: 10.1155/2018/1969474.

744. Zhou X. Neutrophils in acute lung injury / X. Zhou, Q. Dai, X. Huang // *Front. Biosci.* 2012. – Vol.17. – P.: 2278-2283.

745. Zhou, Y. Evaluation of exercise-induced muscle damage by surface electromyography/ Y. Zhou, Y. Li, R. Wang // *J. Electromyogr. Kinesiol.* 2011. – Vol. 21. – № 2. – P.: 356-362.

Автор выражает благодарность соавторам за содействие в выполнении работы и помощь в проведении исследований: директору Центра Лазерной Техники и Технологии НИИЭФА им. Д.В. Ефремова д.т.н. Г.А. Баранову (активация и модификация биомишеней лазерным излучением и пучком электронов); Главному научному сотруднику НИИ Цитологии РАН д.б.н. Б.А. Маргулису (обеспечение БТШ70 для исследований, определение содержания БТШ70 и цитокинов в биоматериалах); заведующему лабораторией токсикологии НИИ ГПЭЧ ФМБА России к.м.н. А.В. Земляному (выявление защитного эффекта модифицированного ЛПС и БТШ70 на экспериментальных моделях патологических состояний,

биохимические исследования), зав. отделением эндоскопии 442 ОВКГ [Ю.В.Киселеву] (лазерная терапия длительно не рубцующихся язв желудка), старшему преподавателю кафедры военной эпидемиологии ВМА им. С.М. Кирова к.м.н [А.М. Новосадову] (эпидемиологический анализ заболеваний при экотоксических нагрузках), с.н.с. НИЛ военной терапии Военно-медицинской академии К.М. Светиковой (морфометрия биоптатов), ст. лаборанту кафедры военно-полевой терапии ВМА им. С.М. Кирова Е.Н. Михальцовой (иммунологические исследования), с.н.с. лаборатории клинической иммунологии ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова к.б.н. Н.В. Бычковой (проточная цитометрия), с.н.с. кафедры военно-полевой терапии ВМА им.С.М. Кирова, к.х.н. А.И. Губанову (хроматографические исследования), директору ООО «Альтернативные инновационные технологии» А.Л. Ниворожкину (обеспечение БТШ70-ПЭГ, БТШ70-Fc), с.н.с. Института биофизики клетки РАН д.б.н. М.Г. Винокурову (определение «кислородного взрыва» в лейкоцитах).