



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **105605** (13) **C2**
(51) МПК (2014.01)**A61K 35/74** (2006.01)**C12N 1/00****C12N 9/14** (2006.01)**C12R 1/125** (2006.01)ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД**

(21) Номер заявки:	а 2013 09848	(73) Власник(и):	Соколовський Іван Іванович , пр. Гагаріна, 104, кв. 269, м. Дніпропетровськ, 49107 (UA), Брушков Анатолій Вікторович , ул. Почтовая, 23, кв. 1, г. Нахабино, Московская обл., 143430 (RU), Гріва Геннадій Іванович , бул. Дм. Донского, 11, корп. 1, кв. 14, г. Москва, 117216 (RU), Грива Олег Іванович , вул. О. Гончара, 15/17, кв. 53, м. Дніпропетровськ, 49005 (UA), Деримедвідь Людмила Віталіївна , пр. Московський, 96, кв. 70, м. Харків, 61187 (UA), Карпенко Наталія Володимирівна , с. Дубники, 17, Новоград-Волинський р-н, Житомирська обл., 11713 (UA), Соколов Олег Олегович , бул. Слави, 4-а, кв. 1, м. Дніпропетровськ, 49100 (UA), Соколовський Сергій Сергійович , вул. Мандриківська, 222, кв. 21, м. Дніпропетровськ, 49000 (UA)
(22) Дата подання заявки:	08.08.2013	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	Kumar R, Bansal DD, Patel DD, Mishra S, Karamalakova Y, Zheleva A, Gadjeva V, Sharma RK. Antioxidative and radioprotective activities of semiquinone glucoside derivative (SQGD) isolated from Bacillus sp. INM-1. Mol Cell Biochem. 2011 Mar;349(1-2):57-67. UA 58557 C2, 15.08.2003. UA 65745 A, 15.04.2004. UA 96709 C2, 25.11.2011. RU 2298032 C2, 27.04.2007.
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	26.05.2014		
(41) Публікація відомостей про заявку:	27.01.2014, Бюл.№ 2		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	26.05.2014, Бюл.№ 10		
(72) Винахідник(и):	Соколовський Іван Іванович (UA), Брушков Анатолій Вікторович (RU), Гріва Геннадій Іванович (RU), Грива Олег Іванович (UA), Деримедвідь Людмила Віталіївна (UA), Карпенко Наталія Володимирівна (UA), Соколов Олег Олегович (UA), Соколовський Сергій Сергійович (UA)		

(54) ЗАСТОСУВАННЯ ШТАМУ РЕЛІКТОВИХ БАКТЕРІЙ BACILLUS SP. F ЯК РАДІАЦІЙНОЗАХИСНОГО ЗАСОБУ**(57) Реферат:**

Винахід належить до застосування штаму реліктових бактерій Bacillus sp. F як радіаційнозахисного засобу.

UA 105605 C2

Винахід належить до біотехнологій, зокрема до промислових штамів мікроорганізмів, і отримання радіаційнозахисних препаратів.

З більше шести мільйонів відомих до теперішнього часу хімічних речовин близько сорока тисяч мають шкідливі для людини властивості, а дванадцять тисяч є токсичними і негативно впливають на репродуктивну функцію людини, викликають злоякісні новоутворення і порушують апарат спадковості, при цьому багато з цих речовин є неминучими супутниками більшості технологічних процесів, в тому числі і в фармацевтичних виробництвах. Існує навіть думка, що з урахуванням наслідків, що викликаються вживанням хімічно синтезованих лікарських засобів, створених з застосуванням сучасних технологій, відмова від лікування у ряді випадків менш небезпечна, ніж лікування рядом фармпрепаратів (у Сполучених Штатах Америки щорічно витрачається 3 чи 4 мільярда доларів на подолання наслідків, створених використанням лікарських засобів).

Тому в передових в технологічному відношенні (в частині молекулярної біології і генетики) країнах ведуться інтенсивні пошуки методів отримання лікарських засобів, заснованих на використуванні рослинної і мікробіологічної сировини. Одержані при цьому фармпрепарати відрізняються від синтетичних продуктів великою різноманітністю структур і фізико-хімічних властивостей, оскільки рослини і мікроорганізми утворилися в природі по схемах біоценозу, що сформувалися протягом тисячоліть, близькі тваринним організмам і легко залучаються до процесів обміну, а в рослинних зразках і мікроорганізмах природа часто створює фармакоформи, які не мають аналогів в синтетичних продуктах.

Відомий штам бактерії *Bacillus megaterium*, призначений для деструкції фосфатоорганічних пестицидів (авт. свід. СРСР № 1735359, 1992 р.). Штам може виконувати важливу функцію очищення природних середовищ, але вузька направленість не дозволяє використовувати його як бази для виробництва лікарських засобів для людей і тварин.

Відомий штам бактерій *Bacillus mucilaginosus* продукт біостимулятора неспецифічного імунітету телят (авт. свід. RU 1210452, 1996 р.).

Недоліками зазначеного штаму є те, що він незадовільно росте в лабораторних умовах разом з низькою біологічною (ферментативною) активністю і складним технологічним процесом його отримання, який включає ультрафіолетове опромінення та заморожування у рідкому азоті.

Відомі штами бактерій групи *Bacillus subtilis* (патенти UA 56348, 15.05.2003 та 80995, 26.11.2007), які одержані шляхом аналітичного селекціонування та виділені із ґрунтів відповідно, і які мають імуностимулюючу та протипухлинну активність.

Відомий штам бактерій *Bacillus subtilis* P-1 - переважно як продуцент протеази (патент RU 2208633, 2001 р.).

Відомий також штам бактерій *Bacillus macroides* Excel 00, виділений з міцелію лікарського гриба *Agaricus Blazei* Murill, що проявляє імунну активність і здатність перешкоджати старінню і хворобам (заявка JP 2008-005702 A, 2008 р.).

Основним недоліком вказаних штамів є тривалість процесу культивування і необхідність вирощування на дорогих живильних середовищах, що включають нестандартні і рідкісні харчові компоненти, а також нестабільність біологічних продуктів.

Відомий штам бактерій *Bacillus subtilis* 1779 (прототип), по видовій подібності найближчий до штаму, що заявляється, виділений в природних умовах, проявляючий широкий спектр активності антагоніста, низьку адгезивну здатність, імуномодулюючу активність і продукуючий комплекс гідролітичних ферментів (патент RU 2298032, 2007 р.).

Проте вузька сировинна база для штаму-прототипу, обмежений діапазон живильних середовищ для його культивування, відсутність даних про його гепатозахисні властивості і по фармакокінетиці в дослідженнях *in vivo* вимушують вести пошук інших штамів з більш високими споживчими характеристиками.

В Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України 03 грудня 2010 р. задепоновано новий штам реліктової бактерії *Bacillus* sp. F (реєстровий номер *Bacillus* sp. 1MB B-7323), і в патенті UA96709, 2011 р. представлено технологію культивування штаму та його імуномодулюючі та геропротекторні властивості.

Радіаційнозахисні властивості не виявлені.

В основу пропонованого винаходу покладено задачу застосування штаму реліктових бактерій *Bacillus* sp. F як радіаційнозахисного засобу.

Для вирішення поставленої задачі пропонується застосування штаму реліктових бактерій *Bacillus* sp. F, задепонованого в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України, як радіаційнозахисного засобу.

Штам виділений із стародавніх багаторічномерзлих порід верхнеплейстоценового віку в геологічному оголенні Мамонтової гори (Центральна Якутія).

Штам являє собою слабо рухомі прямі палички із закруглюючими кінцями розмірами (1-1,2)×(3-10) мкм, по 1-2 ланцюжки і іноді до 7, ендоспори бацилярного типу, грампозитивний, психротолерантний, факультативний анаероб. На щільних живильних середовищах спостерігається утворення та зростання непрозорих блискучих м'яких колоній жовтуватого кольору при температурі від +5 до +43 °C і рН 5-12.

Дослідження проводилися на безпородних білих мишах-самцях масою 18-22 г і щурах-самках масою 180-200 г. В цій серії дослідів тварини піддавалися загальному однократному рентгенівському опромінюванню в середньо-летальній і мінімально абсолютно летальній дозах, встановлених експериментально для даного стада.

Для мишей доза $LD_{50/30}$ склала 5,8 Гр, для щурів - 6,2 Гр. Мінімальна абсолютно летальна доза для мишей $LD_{100/30}$ склала 7,5 Гр, для щурів - 8,0 Гр.

На першому етапі радіобіологічних експериментів була поставлена задача оцінити ефективність лізату *Bacillus sp. F* при дії летальних доз іонізуючої радіації.

Для оцінки впливу лізату *Bacillus sp. F* на тварини, які були опромінені, вивчалися, перш за все, такі інтегральні характеристики як виживаність, середня тривалість життя загинувших тварин; основні показники стану периферичної крові і кісткового мозку. Для проведення радіаційнобіологічних експериментів тварини були розділені на наступні групи:

1. Контрольна група одержувала "несправжнє" опромінювання. Тварини цієї групи піддавалися всім процедурам, передуючим і супроводжуваним опромінюванням, тобто перебували в спеціальних клітках в рентгенівському кабінеті протягом всього часу опромінювання, але при вимкненому апараті;

2. Групи опромінених (RO) тварин без лікування (нелікований контроль);

3. Тварини з опромінюванням, що одержували препарат *Bacillus sp. F* по наступних схемах (дослідні групи):

- а) введення лізату за 1 годину до опромінювання в дозі 0,5 мл/кг внутрішньоочеревинно (П1+RO);

- б) введення лізату через 1 годину після опромінювання в дозі 0,5 мл/кг внутрішньоочеревинно (RO+П2);

- в) введення лізату до і після опромінювання у вказані терміни в тих же дозах (П1+RO+П2).

Спостереження проводилися протягом 30 діб. Статистичну обробку одержаних даних проводили на ПЕОМ за допомогою пакету програм STATISTIC A, дані по виживанню обробляли за програмою Survival analysis. Достовірність відмінностей при порівнянні показників оцінювали за допомогою критерію Log-rank test. Дані про виживання опромінених мишей, що одержували препарат *Bacillus sp. F* по трьох схемах, представлені в табл.1 і 2.

Одержані факти свідчать, що ефективним виявилось введення лізату *Bacillus sp. F* за 1 годину до опромінювання. При опромінюванні в середньо-летальній дозі (5,8 Гр) збільшення кількості тварин, що вижили до 30-ої доби, склало приблизно 20 %, а середня тривалість життя (СТЖ) від радіаційного опромінювання до загибелі тварин збільшилася на 9 діб ($P<0,05$) в порівнянні з опроміненими мишами без лікування (гр. 2). Введення лізату після опромінювання (через 1 годину) підвищувало СТЖ (на 5 діб, $P>0,05$). Оптимальною виявилася схема подвійного введення лізату - до і після опромінювання. При цій схемі виживаність опромінених тварин збільшилася на 41 %, а СТЖ - на 11 діб в порівнянні з опроміненим нелікованим контролем ($P<0,01$).

Аналіз поденного розподілу загибелі тварин за період спостереження показав, що максимальні значення летальності в гр. 2 (опромінений контроль без лікування) фіксувалися на 5-7 добу, тобто в період розпаду гострої променевої хвороби (ГПХ) в діапазоні середньо-летальних доз опромінювання. Цей пік летальності відповідає кістковомозковій загибелі опромінених тварин.

Таблиця 1

Протипроменеві ефекти лізату *Bacillus* sp. F у мишей при опромінюванні в середньолетальній дозі (5,8 Гр)

№ групи	Вид дії	Початкова кількість тварин	Кількість тварин, що вижили до 30-ої доби	Вживаність до 30 діб, %	СТЖ, діб (M±m)
1	Несправжнє опромінювання	15	15	100	
2	RO 5,8 Гр	24	11	45,8	17,4±2,48
3а	П1+RO	24	16	66,7*	26,4±1,24*
3б	RO+П2	24	12	50	22,3±1,66
3в	П1+RO+П2	24	21	87,5*	28,8±0,7*

Примітки: *P<0,05 порівняно з нелікованим контролем (гр. 2)

5 В наших експериментах для всіх груп опромінених тварин, що одержували препарати *Bacillus* sp. F, піки летальності зміщувалися на більш пізні терміни (на 20-25 добу). При поєднаному (подвійному) введенні лізату *Bacillus* sp. F мишам, опроміненим в середньолетальній дозі (гр. 3в), пік летальності піддослідних тварин відповідав найпізнішому періоду - 25-30 доби. Цей факт може свідчити про дію лізату на перебіг кістковомозкового синдрому.

10 Аналогічні тенденції можна було відзначити також і при дії лізату *Bacillus* sp. F на мишей, опромінених в мінімальній летальній дозі (табл. 2). При цій дозі радіації (7,5 Гр) в контрольній групі опромінених тварин (гр. 2) була зафіксована 100 %-на загибель до 30-ої доби спостереження.

Таблиця 2

Протипроменеві ефекти *Bacillus* sp. F у мишей при опромінюванні в мінімальній абсолютно летальній дозі (7,5 Гр)

№ групи	Вид дії	Початкова кількість тварин	Кількість тварин, що вижили до 30-ої доби	Вживаність до 30 діб, %	СТЖ, діб (M±m)
1	Несправжнє опромінювання	15	15	100	-
2	RO 7,5 Гр	20	0	0	6,7±0,67
3а	П1+RO	20	3	15*	14,5±1,9*
3б	RO+П2	20	0	0	9,8±1,43
3в	П1+RO+П2	20	4	20*	16,2±1,9*

Примітки: * - P<0,05 порівняно з нелікованим контролем (гр. 2)

15 При введенні лізату *Bacillus* sp. F після опромінювання в мінімальній абсолютно летальній дозі СТЖ загинув тварин подовжувалася на 3 доби (P>0,05). Препарат *Bacillus* sp. F, введений за 1 годину до опромінювання (гр. 3а), викликав ефект відносного зменшення дози, тобто появу в даних групах (гр. 3а і 3в) тварин, що вижили, -15 % і 20 %, відповідно, а також підвищення СТЖ загинув тварин майже в 2 рази (P<0,05).

20 Крива поденної загибелі експериментальних тварин при опромінюванні в мінімальній абсолютно летальній дозі демонструє істотний зсув піків летальності в гр. 3а і 3в (введення лізату *Bacillus* sp. F до опромінювання) на більш пізні терміни - з 3-5-ої доби на 10-15-у добу.

25 Відомо [Корогодін В.І. Проблемы пострadiaционного восстановления. - М.: Атомиздат, 1965], що при опромінюванні в абсолютно летальних дозах рання загибель експериментальних тварин відбувається на 3-5 добу за рахунок репаративної загибелі ентероцитів і розвитку

кишкового синдрому. В наших експериментах клінічні ознаки кишкового синдрому (діарея) зафіксовані в гр. 2 (опромінений контроль) у 80 % мишей до моменту їх загибелі. Аналогічна картина зафіксована в гр. 3б. Проте в гр. 3а і 3в (введення лізату *Bacillus* sp. F за 1 годину до опромінювання) кишковий синдром спостерігався тільки у 50 % тварин. Можливо, радіаційнозахисна дія лізату *Bacillus* sp. F може виявлятися також і в пом'якшенні кишкового синдрому ГЛБ.

На другому етапі радіаційнобіологічного експерименту по виявленню протипроменевих властивостей лізату *Bacillus* sp. F були проведені випробування лізату на опромінених щурах. Щури також піддавалися опромінюванню в 2-х дозах середньолетальній (6,2 Гр) і мінімальній абсолютно летальній (8,0 Гр). Введення лізату *Bacillus* sp. F проводилося по вищеописаних схемах, аналогічних таким в експерименті на мишах. Одержані дані представлені в табл. 3 і 4.

Таблиця 3

Протипроменеві ефекти *Bacillus* sp. F у щурів при опромінюванні в середньолетальній дозі (6,2 Гр)

№ групи	Вид дії	Початкова кількість тварин	Кількість тварин, що вижили до 30-ої доби	Вживаність до 30 діб, %	СТЖ, діб ($M \pm m$)
1	Несправжнє опромінювання	10	10	100	
2	RO 6,2 Гр	12	5	41,7	17,6 \pm 3,26
3а	П1+RO	12	9	75'	28,5 \pm 1,9*
3б	RO+П2	12	5	41,7	18,2 \pm 1,51
3в	П1+RO+П2	12	10	83,3'	29,7 \pm 1,3*

Примітки: * $P < 0,05$ порівняно з нелікованим контролем (гр. 2)

Представлені дані в цілому аналогічні результатам, що одержані раніше в експериментальних дослідженнях на мишах. Для щурів, опромінених в середньолетальній дозі, також більш ефективним виявилось введення лізату *Bacillus* sp. F за 1 годину до опромінювання. Так, в гр. 3а виживаність опромінених тварин підвищилася більш, ніж на 30 % в порівнянні з опроміненим нелікованим контролем, а СТЖ загиблих тварин збільшилася приблизно на 10 діб. Поєднання введення лізату до і після радіаційної дії надавало істотний протипроменевий ефект. В гр. 3в при цьому були найвищі показники приросту виживаності, які майже в 2 рази перевищували аналогічні показники у нелікованого контролю. СТЖ загиблих тварин також значно збільшилася (приблизно на 10 діб) в групах піддослідних тварин, які одержували препарат *Bacillus* sp. F перед опромінюванням.

Відповідно динаміка загибелі опромінених в середньолетальній дозі щурів демонструє значущий зсув піків летальності на найпізніші терміни в групах опромінених тварин, які одержували препарат *Bacillus* sp. F до опромінювання. Ці факти підтверджують виказане вище припущення про радіаційнозахисний вплив лізату *Bacillus* sp. F на стан кровотворення в умовах радіаційної дії.

Радіаційнозахисна дія лізату *Bacillus* sp. F виявлялася також і при опромінюванні щурів у в мінімальній абсолютно летальній дозі (табл. 4).

Таблиця 4

Протипроменеві ефекти лізату *Bacillus* sp. F у щурів при опромінюванні в мінімальній абсолютно летальній дозі (8,0 Гр)

№ групи	Вид дії	Початкова кількість тварин	Кількість тварин, що вижили до 30-ої доби	Вживаність до 30 діб, %	СТЖ, діб ($M \pm n$)
1	Несправжнє опромінювання	10	10	100	-
2	RO 8,0 Гр	12	0	0	$6,7 \pm 1,48$
3а	П1+RO	12	3	25,0*	$13,2 \pm 1,93^*$
3б	RO+П2	12	0	0	$10,4 \pm 2,92$
3в	П1+RO+П2	12	4	33,3*	$15,3 \pm 1,86^*$

Примітки: * $P < 0,05$ порівняно з нелікованим контролем (гр. 2)

5 При цій дозі радіації (8,0 Гр) в контрольній групі опромінених тварин (гр. 2) була зафіксована 100 %-на загибель до 30-ої доби спостереження. Препарат *Bacillus* sp. F, введений за 1 годину до опромінювання, викликав ефект зменшення дози у відповідних групах (гр. 3а і 3в), що виявлялося в значущому зниженні летальності - приблизно на 25-30 %, а також підвищенні СТЖ загиблих тварин майже в 2 рази ($P < 0,05$) при опромінюванні в мінімально летальній дозі (8,0 Гр).

10 Крива поденної загибелі експериментальних тварин при опромінюванні в мінімальній абсолютно летальній дозі демонструє істотний зсув піків летальності на 12-15 добу в гр. 3а і 3в (введення лізату *Bacillus* sp.F до опромінювання).

В групах тварин, що лікувались препаратом *Bacillus* sp. F, спостерігалось майже двократне зниження кількості тварин з проявами кишкового синдрому.

15 В цілому аналіз даних щодо дії *Bacillus* sp. F на виживаність і тривалість життя летальне опромінених тварин переконливо свідчить про наявність у даного лізату виражених радіаційнопрофілактичних і радіаційнотерапевтичних властивостей. Введення лізату за 1 годину до опромінювання підвищувало виживаність експериментальних тварин приблизно на 20-30 %, а при використанні схеми подвійного введення (до і після опромінювання) виживаність підвищувалася на 30-40 %. Аналіз динаміки загибелі опромінених тварин указує на те, що 20 точкою прикладення дії лізату є критичні радіаційновражаємі системи, головним чином система кровотворення.

25 Для підтвердження дії лізату *Bacillus* sp. F на стан гемопоезу у опромінених тварин нами були проведені дослідження показників периферичної крові і кісткового мозку на найзручнішій експериментальній моделі - щурах, опромінених в середньолетальній дозі (6,2 Гр), оскільки, як указувалося вище, саме при середньолетальних дозах формується найяскравіша картина порушень кісткомозкового кровотворення, а кісткомозковий синдром є основною причиною загибелі тварин в даному дозовому діапазоні.

30 Виражені порушення гемопоезу розвиваються у гризунів приблизно через тиждень після опромінювання - в період розпалу променевої хвороби. Виходячи з цього, показники крові і кісткового мозку у щурів визначали на 10-у добу після опромінювання. Одержані дані представлені в табл. 5.

Таблиця 5

Вплив *Bacillus* sp. F на показники кровотворення у щурів на 10 добу після опромінювання в середньолетальній дозі 6,2 Гр ($M \pm m$)

№ гр.	Вид дії	n	Еритроцити, $10^{12}/л$	Лейкоцити, $10^9/л$	Тромбоцити, $10^9/л$	Мієлокаріоцити $10^6/стегно$
1	Несправжнє опромінювання	10	$5,81 \pm 0,31$	$8,6 \pm 0,45$	357 ± 28	$35,5 \pm 2,4$
2	RO 6,2 Гр	8	$4,06 \pm 0,27^*$	$1,3 \pm 0,25^*$	$195 \pm 26^*$	$7,2 \pm 1,4^*$
3а	П1+RO	8	$4,85 \pm 0,24^{**}$	$3,5 \pm 0,23^{***}$	$214 \pm 29^*$	$15,8 \pm 1,1^{***}$
3б	RO+П2	8	$4,28 \pm 0,32^*$	$2,1 \pm 0,44^*$	$189 \pm 18^*$	$10,2 \pm 0,8^*$
3в	П1+RO+П2	8	$5,04 \pm 0,25^{**}$	$6,0 \pm 0,28^{***}$	225 ± 17	$19,4 \pm 1,3^{***}$

Примітки:

* $P < 0,05$ порівняно з неопроміненим контролем (група 1);

** $P < 0,05$ порівняно з опроміненим контролем (група 2);

n - кількість тварин в групі

Проведені дослідження показали, що на 10-у добу спостереження у опромінених в дозі 6,2 Гр щурів (гр. 2) в периферичній крові розвивалися характерні пострадіаційні зміни, відповідні картині кістковомозкового синдрому.

У тварин даної групи розвивалася глибока лейкопенія, при якій на 10-у добу кількість лейкоцитів складала лише 15 % від неопроміненого контролю (гр. 1).

Лейкопенія супроводжувалася розвитком тромбоцитопенії із зменшенням кількості тромбоцитів майже удвічі (54,6 % від рівня показника у неопроміненого контролю, $P < 0,01$). На цьому фоні відзначалася також наявність помірної анемії - кількість еритроцитів знижувалася на 30 % ($P < 0,05$). Ці зміни з'явилися слідством пригнічення кістковомозкового кровотворення - показник загальної клітинності кісткового мозку стегнової кістки був понижений майже в 5 разів в порівнянні з аналогічним показником в групі 1 (неопромінений контроль).

Введення експериментальним тваринам перед опромінюванням *Bacillus* sp. F (гр. 3а) приводило до більш помітного пом'якшення проявів кістковомозкового синдрому. Показники гемограми демонстрували наявність у щурів цієї групи помірної лейко- і тромбопенії, а також анемії, проте ці патологічні реакції були виражені у меншій мірі, ніж в контрольних групах (гр. 2).

В порівнянні з показниками гр. 2 у меншій мірі знижувався рівень кількості лейкоцитів (40,7 % від рівня неопроміненого контролю проти 15 % в гр. 2); кількість еритроцитів не мала достовірних відмінностей з групою неопроміненого контролю. Кількість тромбоцитів залишалася пониженою - на рівні показника групи опроміненого контролю. Кількість мієлокаріоцитів більш ніж в 2 рази перевищувала аналогічні показники в обох контрольних групах (гр. 2).

Введення експериментальним тваринам *Bacillus* sp. F після опромінювання (гр. 3б) викликало деяку тенденцію до відновлення гемопоезу. Можна відзначити невелике збільшення вмісту мієлокаріоцитів в стегновій кістці щурів, а також лейкоцитів і еритроцитів в периферичній крові, проте ці показники не мали достовірних відмінностей з аналогічними в 2-й групі (опромінений контроль).

Застосування *Bacillus* sp. F по схемі, яка включає введення його як до опромінювання, так і після (група 3в), приводило до істотного прискорення відновлення гемопоезу. Гемостимулюючий ефект виявлявся в достовірному в порівнянні з групою опроміненого контролю поліпшенні показників периферичної крові і збільшенні загальної клітинності кісткового мозку. Так, кількість еритроцитів не мала достовірних відмінностей з групою неопроміненого контролю (гр. 1). Число лейкоцитів в групі 3в залишалося пониженим в порівнянні з неопроміненими тваринами, проте на 55 % перевищувало цей показник в групі опроміненого контролю. Тенденцію до відновлення мав і показник кількості тромбоцитів. Вміст мієлокаріоцитів в 2,75 разів перевищував аналогічний показник в групі опроміненого контролю.

Були також проведені дослідження по впливу *Bacillus* sp. F на рівень глюкози і загального білка у опромінених тварин при різноманітних режимах введення лізату (табл. 6). З'ясувалось, зокрема, що введення препарату до і після опромінювання (гр. 3в) створює більш виражений нормалізуючий вплив на показники вуглеводного і білкового обміну (табл. 6), ніж в групах 3а і 3б.

Таблиця 6

Вплив *Bacillus* sp. F на рівень глюкози і загального білка у щурів на 10 добу після опромінювання в середньолетальній дозі 6,2 Гр ($M \pm m$)

№ гр.	Вид дії	n	Глюкоза, ммоль/л	Загальний білок, г %
1	Несправжнє опромінювання	10	$5,6 \pm 0,6$	$6,72 \pm 0,2$
2	RO 6,2 Гр	8	$4,1 \pm 0,22^*$	$4,4 \pm 0,2^*$
3а	П1+RO	8	$4,7 \pm 0,21$	$4,9 \pm 0,2^{**}$
3б	RO+П2	8	$4,8 \pm 0,32^*$	$5,0 \pm 0,3^*$
3в	П1+RO+П2	8	$5,2 \pm 0,3^{**}$	$5,5 \pm 0,3^{**}$

Примітки:

* $P < 0,05$ порівняно з неопроміненим контролем (група 1);

* $P < 0,05$ порівняно з опроміненим контролем (група 2);

n - кількість тварин в групі

В цілому проведені дослідження показали, що *Bacillus* sp. F діє стимулююче на відновлення системи гемопоезу експериментальних тварин, а найсприятливішою є схема застосування, що передбачає введення лізату до і після радіаційного впливу.

Таким чином, радіаційнобіологічні експерименти, проведені на 2-х видах лабораторних тварин, які одержували дію іонізуючої радіаційнеї в двох дозових діапазонах (середнє- і абсолютно летальні дози), переконливо свідчать про наявність протипроменевих властивостей у лізату *Bacillus* sp. F. Найефективнішою у всіх дозових діапазонах виявилася схема подвійного введення лізату - за 1 годину до і через 1 годину після опромінювання.

Сукупність всіх одержаних даних указує на наявність радіаційнепротекторних властивостей у лізату *Bacillus* sp. F. Даний препарат не може бути віднесений до категорії особливо ефективних радіапротекторів, оскільки забезпечує збільшення виживаності при летальних дозах радіації менш, ніж на 50 %. Проте, протипроменеві ефекти лізату *Bacillus* sp. F відповідають вимогам, що пред'являються до радіаційнопрофілактичних і радіаційнотерапевтичних лізатів, що застосовуються для пом'якшення небажаних ефектів променевої терапії. Відносно невисокі ефективні дози, тривалість дії, відсутність токсичності і побічних ефектів, виражені гемостимулюючі властивості, роблять доцільним подальші дослідження протипроменевих властивостей лізату *Bacillus* sp. F.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Застосування штаму реліктових бактерій *Bacillus* sp. F як радіаційнозахисного засобу.

Комп'ютерна верстка С. Чулій

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601