

Влияние биотехнологических противолучевых препаратов на противоопухолевый эффект экспериментальной лучевой терапии

Е.В. Мурзина¹, Е.И. Федорос², Е.Д. Ермакова², Н.В. Аксенова¹, Е.В. Воробейчиков³, А.С. Симбирцев⁴, Г.А. Софронов¹

¹Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова Минобороны России
194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6

²Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова
Минздрава России

197758, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68

³ООО «Научно-производственная фирма «БИОС»

197101, г. Санкт-Петербург, ул. Кронверкская, 23, лит. А, пом. 219–220

⁴Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов
ФМБА России

197110, г. Санкт-Петербург, ул. Пудожская, 7

Резюме

Использование радиозащитных препаратов при лучевой терапии опухолей может способствовать снижению риска неблагоприятного влияния ионизирующего излучения на нормальные ткани и улучшить качество жизни пациентов. Однако существует обеспокоенность, что протекторное действие препаратов также будет направлено на опухолевые клетки и снизит эффективность противоопухолевой терапии. Целью работы явилось экспериментальное изучение возможности использования перспективных биотехнологических противолучевых препаратов для снижения нежелательных эффектов лучевой терапии опухолей. **Материал и методы.** Исследование выполнено на модели карциномы Эрлиха у мышей BALB/c с экспериментальным лучевым лечением в виде общего однократного рентгеновского облучения в дозе 4 Гр. Биотехнологические препараты, разработанные отечественными специалистами, вводили мышам на 12-е сутки после перевивки опухоли до облучения: хитин-глюкановый комплекс из гриба вешенка обыкновенная в дозе 500 мг/кг внутривенно, деиммунизированный рекомбинантный флагеллин в дозе 1 мг/кг внутривенно. Оценивали объем опухолевых узлов в разные сроки опыта, рассчитывали степень торможения роста опухоли, регистрировали распространение опухоли в близлежащие ткани. **Результаты и их обсуждение.** Исследованные препараты не вызывали стимуляцию опухолевого роста и не снижали торможение роста опухолевых узлов у облученных мышей. В отдельные сроки опыта у мышей с комбинированной терапией наблюдали тенденцию к увеличению эффективности экспериментальной лучевой терапии (на 4–6 %). При применении рекомбинантного флагеллина регистрировали уменьшение количества животных с тотальным распространением карциномы Эрлиха, а при использовании грибного хитин-глюканового комплекса – снижение величины интегрального балльного показателя диссеминации. **Заключение.** Результаты работы показали отсутствие негативного влияния хитин-глюканового комплекса из гриба вешенка обыкновенная и деиммунизированного рекомбинантного флагеллина на противоопухолевый эффект экспериментальной лучевой терапии, что подтверждает возможность их применения в качестве средств сопровождения радиотерапии опухолей.

Ключевые слова: экспериментальная лучевая терапия, карцинома Эрлиха, мыши BALB/c, бета-D-глюкан, вешенка обыкновенная, рекомбинантный флагеллин.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена в рамках участия Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова в Программе стратегического академического лидерства «Приоритет-2030».

Благодарности. Авторы благодарят сотрудников ООО «АТГ Сервис ГЕН» за предоставление для исследований рекомбинантного флагеллина.

Автор для переписки. Мурзина Е.В., e-mail: elenmurzina@mail.ru

Для цитирования. Мурзина Е.В., Федорос Е.И., Ермакова Е.Д., Аксенова Н.В., Воробейчиков Е.В., Симбирцев А.С., Софронов Г.А. Влияние биотехнологических противолучевых препаратов на противоопухолевый эффект экспериментальной лучевой терапии. *Сиб. науч. мед. ж.* 2025;45(2):102–112. doi: 10.18699/SSMJ20250211

The influence of the impact of biotechnological radioprotective drugs on the antitumor effect of experimental radiation therapy

E.V. Murzina¹, E.I. Fedoros², E.D. Ermakova², N.V. Aksenova¹, E.V. Vorobeychikov³, A.S. Simbirtsev⁴, G.A. Sofronov¹

¹ S.M. Kirov Military Medical Academy

194044, Saint-Petersburg, Akademika Lebedeva st., 6

² N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology of Minzdrav of Russia

197758, Saint-Petersburg, vlg. Pesochny, Leningradskaya st., 68

³ LLC Scientific and production company “BIOS”

197101, Saint-Petersburg, Kronverkskaya st., 23, lit. A, rooms 219-220

⁴ State Research Institute of Highly Pure Biopreparations of FMBA of Russia

197110, Saint-Petersburg, Pudozhskaya st., 7

Abstract

Exposure to ionizing radiation during antitumor radiotherapy can cause undesirable side effects. This is damage to healthy tissues and organs. The use of radioprotective drugs can provide protection for normal cells, but there are risks of their negative impact on the antitumor effect of radiotherapy. The aim of the work is to study the possibility of using promising biotechnological radioprotective drugs to reduce the side effects of antitumor radiotherapy. **Material and methods.** The study was performed on model of Ehrlich's carcinoma in BALB/c mice with experimental radiation treatment (4 Gy X-ray). Biotechnological products, developed by Russian specialists, were administered to mice before irradiation on the 12th day after the tumor was transplanted. Chitin-glucan complex extracted from *Pleurotus ostreatus* was administered at a dose of 500 mg/kg intragastrically, recombinant flagellin at a dose of 1 mg/kg intraperitoneally. The volume of tumor nodules was assessed at different time points during the experiment, the degree of tumor growth inhibition was calculated, and the spread of the tumor into nearby tissues was recorded. **Results and discussion.** The absence of stimulation of tumor growth during the use of drugs has been established. The drugs did not reduce the inhibition of Ehrlich tumor growth in mice caused by experimental X-ray treatment. In some periods of the experiment, mice with combination therapy showed a tendency to increase the effectiveness of radiation treatment by 4–6 %. The use of recombinant flagellin led to a decrease in the number of animals with a total spread of Ehrlich's carcinoma. When using the mushroom chitin-glucan complex, there was a tendency to decrease the value of the integral dissemination score compared to control. **Conclusions.** It was shown that the chitin-glucan complex from the *Pleurotus ostreatus* and the deimmunized recombinant flagellin did not have a negative effect on the antitumor effect of radiation exposure. The possibility of their use as a means of accompanying radiotherapy of tumors has been experimentally confirmed.

Key words: experimental radiotherapy, Ehrlich carcinoma, BALB/c mice, beta-D-glucan, *Pleurotus ostreatus*, recombinant flagellin.

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

Financing. The work was carried out with the participation of the Military Medical Academy in the Strategic Academic Leadership Program “Priority 2030”.

Acknowledgments. The authors thank ATG Service GEN LLC for providing recombinant flagellin.

Correspondence author. Murzina E.V., e-mail: elenmurzina@mail.ru

Citation. Murzina E.V., Fedoros E.I., Ermakova E.D., Aksenova N.V., Vorobeychikov E.V., Simbirtsev A.S., Sofronov G.A. The influence of the impact of biotechnological radioprotective drugs on the antitumor effect of experimental radiation therapy. *Sibirskij nauchnyj medicinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal.* 2025;45(2):102–112. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20250211

Введение

Лучевая терапия является одним из ведущих методов противоопухолевой терапии, но, несмотря на постоянное усовершенствование технологии ее проведения, сохраняются риски воздействия ионизирующего излучения на здоровые клетки окружающих органов и тканей, что впоследствии может привести к ухудшению качества жизни пациентов [1–3]. С целью решения данной проблемы рассматривается применение препаратов с радиозащитными свойствами, однако серьезным ограничением практически всех известных противолучевых средств является низкое соотношение эффективности и переносимости. Так, радиопротектор амифостин, одобренный Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) для медицинского применения в США и странах Западной Европы для снижения лучевого поражения нормальных тканей при радиотерапии опухолей головы и шеи, эффективен в дозах, приближающихся к максимально переносимым [4].

Для профилактики или минимизации нежелательных эффектов радиационного воздействия представляется перспективным использование радиопротекторов природного происхождения, из которых большим потенциалом обладают белки семейства флагеллинов и биоактивные полисахариды бета-D-глюканы. Флагеллины, основные структурные компоненты бактериальных жгутиков, являются и одними из ведущих антигенов для систем иммунитета животных и человека [5]. Наиболее успешным рекомбинантным препаратом, созданным на основе флагеллина, является CBLB502 (коммерческое название «энтолимод», Cleveland BioLabs, США), который может обеспечить высокую степень защиты нормальных клеток от лучевого поражения, что продемонстрировано в экспериментах на лабораторных мышах и приматах [6]. Серьезным ограничением широкого клинического применения энтолимода является его достаточно высокая иммуногенность, для преодоления которой в настоящее время проводится разработка молекул с делециями потенциально антигенных участков [7].

Физиологически активные бета-D-глюканы, содержащиеся в дрожжах, высших грибах, водорослях, некоторых растениях, оказывают в организме млекопитающих и человека многочисленные положительные эффекты и в настоящее время классифицируются как модификаторы биологических реакций [8]. Наряду с лечебными грибами, используемыми в традиционной восточной медицине (шиитаке, мукитаки, рейши и др.), в биологически активной форме бета-D-глюканы

содержатся и в некоторых грибах рода вешенка, в частности, вида вешенка обыкновенная (*Pleurotus ostreatus*), который относится к наиболее широко культивируемым пищевым грибам в мире [9]. Радиозащитное действие бета-D-глюканов естественного происхождения обеспечивается совокупностью антиоксидантных, иммуномодулирующих, гемопозэстимулирующих и противовоспалительных свойств [10].

Биоактивные соединения с радиозащитной активностью представляются перспективными препаратами для защиты здоровых тканей и органов при лучевой терапии злокачественных новообразований, однако существуют опасения, что включение их в протоколы лечения онкологических пациентов может привести к стимуляции роста опухоли или снизить радиочувствительность опухолевых клеток.

Цель работы – экспериментальное изучение возможности использования перспективных биотехнологических противолучевых препаратов для снижения нежелательных эффектов лучевой терапии опухолей.

Материал и методы

Исследование проведено с использованием экспериментальной модели карциномы Эрлиха у лабораторных мышей. Противоопухолевую лучевую терапию осуществляли общим облучением животных самостоятельно или в сочетании с профилактическим применением биотехнологических препаратов – рекомбинантного флагеллина или бета-D-глюкана. На протяжении всего эксперимента у животных регистрировали клинические проявления токсичности, смертность, продолжительность жизни, массу тела, объем опухолевых узлов; проводили макроскопическую оценку прорастания опухоли и диссеминации опухолевого процесса.

Эксперименты проводили с использованием 100 половозрелых мышей самцов линии BALB/c возрастом 3 мес., массой 18–22 г, полученных из питомника Филиал «Андреевка» Научного центра биомедицинских технологий ФМБА России (Московская область). Животных содержали по 10 особей в поликарбонатных клетках в стандартных условиях вивария при температуре $22 \pm 3^\circ \text{C}$, 30–70 % влажности воздуха, с 12-часовым циклом освещения (день/ночь). Мыши имели постоянный доступ к воде и пище, для кормления использовали полнорационный комбикорм. Все манипуляции осуществляли с соблюдением нормативных документов, регулирующих обращение с животными, используемыми в научных целях. Протокол доклинического исследования одобрен

на заседании Комитета по этике при ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (протокол № 26/175 от 20.07.2023).

После 14-суточного карантина животные распределены по группам (по 20 особей в каждой): «К биол» – биологический контроль, «К Оп» – мыши с перевитыми опухолями без лечения, «К ЛЛ» – мыши с лучевым лечением опухоли без использования радиозащитных препаратов, «БГ» и «dFlic» – мыши с лучевым лечением опухоли и с введением бета-D-глюкана или рекомбинантного флагеллина соответственно. Основным критерием рандомизации животных служила масса тела, индивидуальное значение которой у мышей всех групп не отклонялось от среднего значения более чем на 10 %.

В работе использовали биотехнологические препараты, противолучевое действие которых продемонстрировано в ранее проведенных экспериментах [11, 12] – субстанцию глюоран, произведенную в ООО «Научно-производственная фирма «БИОС» (г. Санкт-Петербург), которая представляет собой хитин-глюкановый комплекс из пищевого гриба вешенка обыкновенная, содержащий бета-D-глюканы (БГ), и делетированный рекомбинантный флагеллин *Salmonella enterica* (dFlic), разработанный в ООО «АТГ Сервис ГЕН» (г. Санкт-Петербург) в форме раствора с содержанием белка 1,7 мг/мл. Препараты вводили экспериментальным животным однократно в профилактической схеме, за 15–30 мин до облучения: dFlic разводили до необходимой концентрации раствором 0,9%-го натрия хлорида и вводили внутрибрюшинно в дозе 1 мг/кг, БГ в дозе 500 мг/кг вводили внутривенно в виде водного раствора с помощью атравматичного желудочного зонда.

Для получения солидной опухоли мышам подкожно в область правого бедра вводили суспензию опухолевых клеток карциномы Эрлиха в количестве 10^6 клеток/мышь. Культура клеток получена из банка опухолевых клеток НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова. Экспериментальное лучевое лечение моделировали однократным общим облучением мышей в дозе 4 Гр на 12 сут после перевивки опухоли, которое проводили с помощью рентгенотерапевтической установки «РУМ-17» при мощности дозы 0,328 Гр/мин в направлении «спина – грудь», с кожно-фокусным расстоянием 50 см; напряжение 180 кВт, сила тока 14 мА, фильтр 0,5 мм Cu + 1 мм Al. Для облучения мышей разных групп помещали по 15 особей в пластиковые контейнеры, которые фиксировали на вращающейся со скоростью 2 об/мин подставке для создания относительно равномерного

облучения. Животных групп «К биол» и «К Оп» подвергали «ложному» облучению, т.е. выдерживали в контейнерах на вращающейся подставке, но под выключенной анодной трубкой источника излучения.

Степень влияния препаратов и экспериментальной лучевой терапии на развитие опухолевого процесса оценивали по динамике размера опухолевого узла и степени торможения роста опухоли [13]. Размер опухоли определяли путем измерения длины и ширины два раза в неделю в течение 27 сут после перевивки опухоли и в день гибели (эвтаназии) животного. Объем опухоли (V , мм³) рассчитывали по формуле:

$$V = \frac{a \times b^2}{2},$$

где a и b – длина и ширина опухолевого узла, мм.

Для оценки противоопухолевого эффекта определяли торможение роста опухоли (ТРО, %) по формуле:

$$\text{ТРО} = \frac{V_1 - V_2}{V_1} \times 100,$$

где V_1 и V_2 – средний объем опухоли у животных сравниваемых групп.

В день гибели животного, а при выявлении видимых признаков интоксикации, вызванной опухолевым процессом – эвтаназии, выполняли полную некропсию с оценкой прорастания и диссеминации опухоли. Использовали балльную оценку распространения опухоли в близлежащие ткани: 1 балл – бедро, 2 балла – брюшная полость, 3 балла – малый таз, 4 балла – бедро и брюшная полость, 5 баллов – бедро и малый таз, 6 баллов – тотальное распространение.

Статистическую обработку данных проводили с использованием ПО GraphPad Prism 8 и Statistica 8. В зависимости от характера распределения данных использовали критерии Даннета или Краскелла – Уоллеса для множественных сравнений, Вилкоксона для межгрупповых сравнений и Манна – Уитни для оценки внутригрупповых различий; также был применен пошаговый дискриминантный анализ. Анализ выживаемости выполняли по методу Каплана – Майера с использованием логрангового критерия. Данные представлены в виде $M \pm \sigma$ (95%-й ДИ), где M – среднее значение показателя, σ – среднеквадратическое отклонение, 95%-й ДИ – 95%-й доверительный интервал, или $Me [Q25; Q75]$, где Me – медиана, $Q25$ и $Q75$ – верхний и нижний квартили. Различия принимали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Данные о влиянии примененных методов терапии опухоли Эрлиха у мышей BALB/c на вы-

живаемость мышей представлены на рис. 1. У животных с карциномой Эрлиха без лечения средняя продолжительность жизни составила $34,0 \pm 6,75$ (95 % ДИ 30,8–37,2) сут, экспериментальное лучевое лечение, как в виде монотерапии, так и в комбинации с исследуемыми препаратами, способствовало незначительному ее повышению, хотя отличия не были статистически значимыми. Наибольшая продолжительность жизни зарегистрирована в группе животных, получивших лучевое лечение в комбинации с рекомбинантным флагеллином – $38,0 \pm 6,39$ (95 % ДИ 35–41) сут. В группах животных, получивших лучевую терапию самостоятельно или в сочетании с бета-D-глюканом, значения данного показателя составили $36,7 \pm 6,75$ (95 % ДИ 33,8–39,6) сут и $36,4 \pm 8,86$ (95 % ДИ 32,2–40,5) сут соответственно.

Масса тела животных группы биологического контроля («К биол») к завершению опыта, т.е. гибели всех животных с экспериментальной карциномой Эрлиха, увеличилась на 12 %, что соответствует нормальной возрастной динамике данного показателя (табл. 1). На изменение массы тела мышей с перевитыми опухолями одновременно оказывало влияние несколько факторов: развитие опухоли и ее токсическое действие, смертность ослабленных животных и мышей с массивными опухолями, воздействие рентгеновского излучения, использование препаратов. Как видно из данных, приведенных в табл. 1, масса животных с опухолью без сопутствующей терапии постоянно возрастала, на 27-е сутки после перевивки значительно превышая величину данного показателя у интактных мышей, что обусловлено увеличением массы опухоли – к 31-м суткам опыта теоретическая масса опухоли достигала 3–3,5 г. Во всех группах с экспериментальным лучевым лечением после общего рентгеновского облучения в дозе 4 Гр регистрировали снижение массы тела мышей по сравнению с интактными животными и с мас-

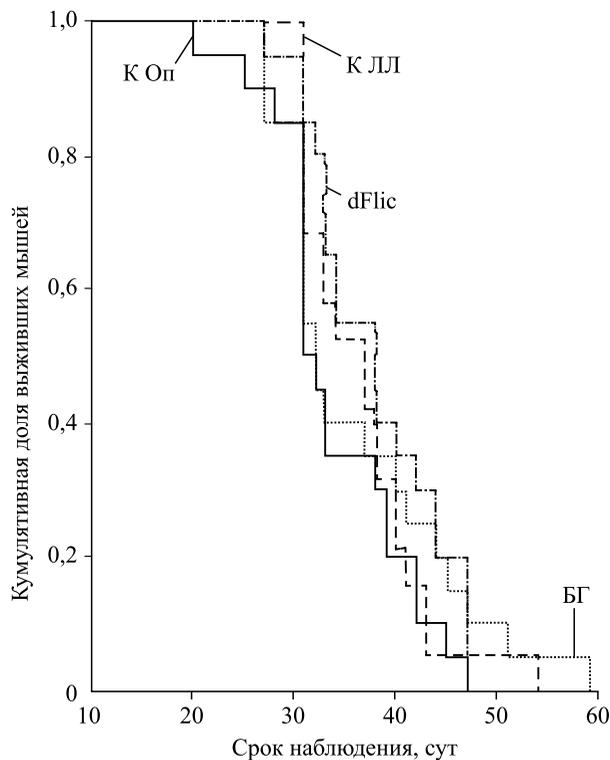


Рис. 1. Выживаемость мышей линии BALB/c с перевитой карциномой Эрлиха

Fig. 1. Survival rate of BALB/c mice with Ehrlich's carcinoma

сой животных в группе «К Оп». Существенных отличий в характере и выраженности изменений массы тела у животных на фоне применения биотехнологических препаратов не выявлено.

На рис. 2 отражена динамика роста опухолевых узлов у мышей разных групп, демонстрирующая умеренное противоопухолевое действие рентгеновского излучения на 15-е сутки после облучения (27-е сутки после перевивки) и в терминальной фазе эксперимента, в данные сроки регистрировали значимое уменьшение размера опухо-

Таблица 1. Динамика массы тела мышей линии BALB/c группы контроля и с перевитой карциномой Эрлиха

Table 1. Dynamics of body weight of control BALB/c mice and mice with Ehrlich's carcinoma

Неделя опыта	Срок после перевивки/ облучения, сут	Масса тела, г				
		К биол	К Оп	К ЛЛ	dFlic	БГ
0	-1/-13	23,9 ± 1,29	24,8 ± 0,95	24,5 ± 1,36	24,7 ± 0,98	24,6 ± 1,33
1	6/-6	24,9 ± 1,09	25,5 ± 1,5	25,1 ± 1,76	24,1 ± 0,93*	26,4 ± 1,49 ^{#,^}
2	13/1	24,8 ± 1,24	24,8 ± 1,24	23,9 ± 1,61	25,1 ± 1,12 [^]	23,2 ± 1,1* [#]
3	20/8	25,1 ± 1,43	24,9 ± 1,29	23,2 ± 1,36* [#]	22,2 ± 1,05* [#]	23,3 ± 1,08* [#]
4	27/15	25,2 ± 1,52	26,3 ± 1,96 [#]	24,1 ± 1,39*	23,3 ± 1,34* [#]	24,6 ± 1,56*
5	34/22	26,2 ± 1,52	26,7 ± 2,22	24,8 ± 1,87*	23,7 ± 0,91* [#]	24,8 ± 1,64*

Примечание. Обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей: * – группы «К Оп», # – группы «К биол», ^ – группы «К ЛЛ».

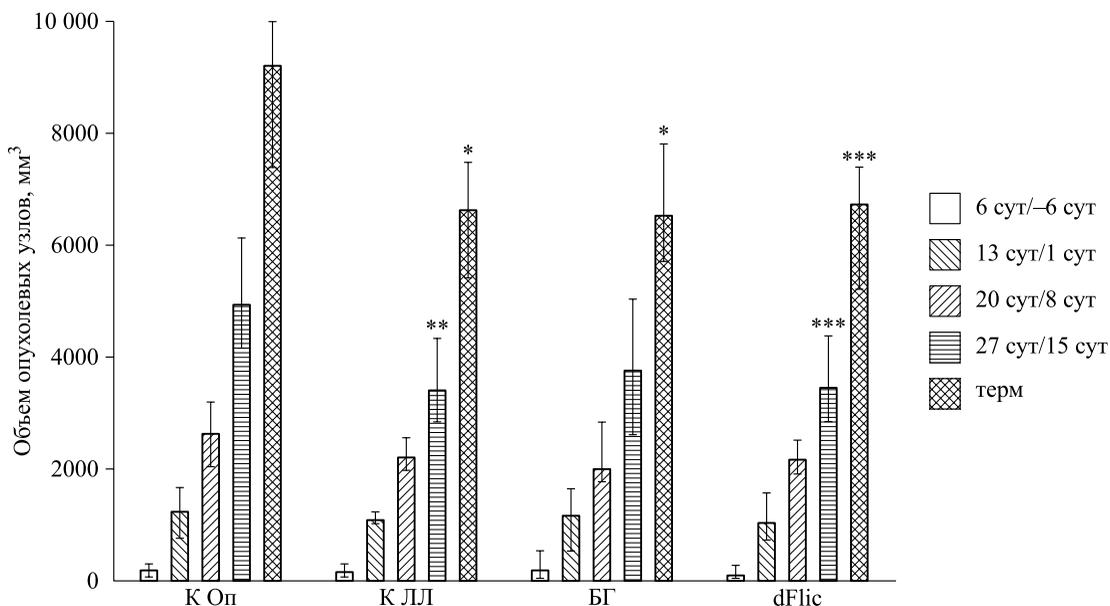


Рис. 2. Изменение объема опухолевых узлов у мышей линии BALB/c группы контроля и с перевитой карциномой Эрлиха; сроки наблюдения – сутки после перевивки опухоли Эрлиха / сутки после облучения, «Терм» – день гибели (эвтаназии) животного; обозначены статистически значимые отличия от соответствующих показателей группы «К Оп»: * – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$, *** – при $p < 0,001$

Fig. 2. Tumor volume in control BALB/c mice and mice with Ehrlich's carcinoma; observation periods – days after Ehrlich tumor transplantation / days after irradiation, "Term" – day of death (euthanasia) of the animal; statistically significant differences from the corresponding indicators of the "K On" group are indicated: * – at $p < 0.05$, ** – at $p < 0.01$, *** – at $p < 0.001$

левых узлов в сравнении с показателем у животных без лечения (группа «К Оп») ($p = 0,005$ и $p = 0,018$ соответственно). На 27-е сутки опухолевого роста также выявлены различия с группой «К Оп» при профилактическом применении рекомбинантного флагеллина. В группе животных, облученных на фоне введения бета-D-глюкана, уменьшение роста опухоли наблюдали на 24-е сутки после перевивки (12-е сутки после облучения), составившее в среднем 25 % от значения в группе «К Оп»: при лучевом лечении с применением бета-D-глюкана объем опухолевых узлов составил $2,72 (2,41; 3,68) \times 10^3 \text{ мм}^3$, у мышей без лечения – $4,05 (3,04; 4,54) \times 10^3 \text{ мм}^3$, $p = 0,017$ (данные на рис. 2 не представлены). В

день гибели животных отличия с группой «К Оп» при всех вариантах проведенного лечения были наиболее очевидными, в то время как объем опухолевых узлов у облученных мышей с применением радиозащитных препаратов или без фармакологической защиты был сопоставим на всех сроках наблюдения.

Использованный вариант лучевого воздействия – однократное общее рентгеновское облучение в дозе 4 Гр – обеспечил умеренное торможение роста экспериментальной опухоли Эрлиха (табл. 2). Так, начиная с 5-х суток после облучения индекс ТРО составлял 20–23 %, и на 15-е сутки по величине данного показателя группа «К ЛЛ»

Таблица 2. ТРО у мышей линии BALB/c с перевитой карциномой Эрлиха

Table 2. Inhibition of tumor growth in BALB/c mice with Ehrlich carcinoma

Группа 2	Группа 1	Индекс ТРО, %, на срок после перевивки / после облучения, сут				
		13/1	17/5	20/8	24/12	27/15
К Оп	К ЛЛ	-2,90	-25,09	-29,11	-27,64	-41,62
К ЛЛ	К Оп	2,81	20,06	22,55	21,66	29,39
dFlic	К Оп	5,06	25,43	12,68	25,26	26,31
	К ЛЛ	2,31	6,72	-12,74	4,60	-4,36
БГ	К Оп	6,76	25,10	19,52	24,83	21,47
	К ЛЛ	4,06	6,31	-3,91	4,06	-11,21

статистически значимо отличалась от группы «К Оп» (на 30 %). Используемая дополнительная терапия не оказала существенного влияния на эффективность лучевого лечения, однако наблюдалась тенденция к ее повышению.

Результаты дискриминантного анализа с использованием двух переменных – массы тела мышей и объема опухолевых узлов, показывают дифференцировку группы животных с опухолями без лечения от всех групп мышей с лучевым лечением (рис. 3). Графическое представление в координатах дискриминантных функций свидетельствует о снижении массы тела мышей в контрольной группе, учитываемой во взаимосвязи с массой развившейся опухоли, что иллюстрируется смещением облака рассеивания в отрицательную область. При этом области распределения анализируемых параметров у мышей, облученных без фармакологической коррекции или с применением обоих препаратов, отличались существенно.

Результаты оценки прорастания перевиваемой опухоли Эрлиха в близлежащие ткани экспериментальных животных всех групп представлены на рис. 4. В контрольной группе с облучением наблюдали снижение частоты случаев тотального распространения опухолевых клеток в 2 раза по сравнению с контрольной группой без облучения.

При введении субстанции бета-D-глюкана уменьшение тотальной диссеминации находилось на уровне показателя контрольной группы с облучением, у 50 % животных новообразование локализовалось в месте введения опухолевых клеток без распространения в окружающие ткани. При профилактическом применении рекомбинантного флагеллина регистрировали снижение повсеместного распространения в 8 раз по сравнению с контрольной группой без облучения и в 5 раз – по сравнению с контрольной группой с облучением; у 65 % мышей рост опухоли затрагивал области бедра и малого таза. Использование балльной оценки показало, что общее облучение в дозе 4 Гр мышей с опухолью способствовало снижению степени ее диссеминации с 4,35 в группе мышей с карциномой без лучевого лечения до 3,95. Применение рекомбинантного флагеллина практически не влияло на величину данного интегрального показателя, составившего 3,85, тогда как при использовании бета-D-глюкана наблюдалось его уменьшение до 3,2.

В целом результаты работы показали, что применение радиозащитных препаратов не только не ослабляло эффективность экспериментального лучевого лечения, но в отдельные сроки наблюдения обеспечивало некоторые преимущества в виде дополнительного ТРО в течение двух недель

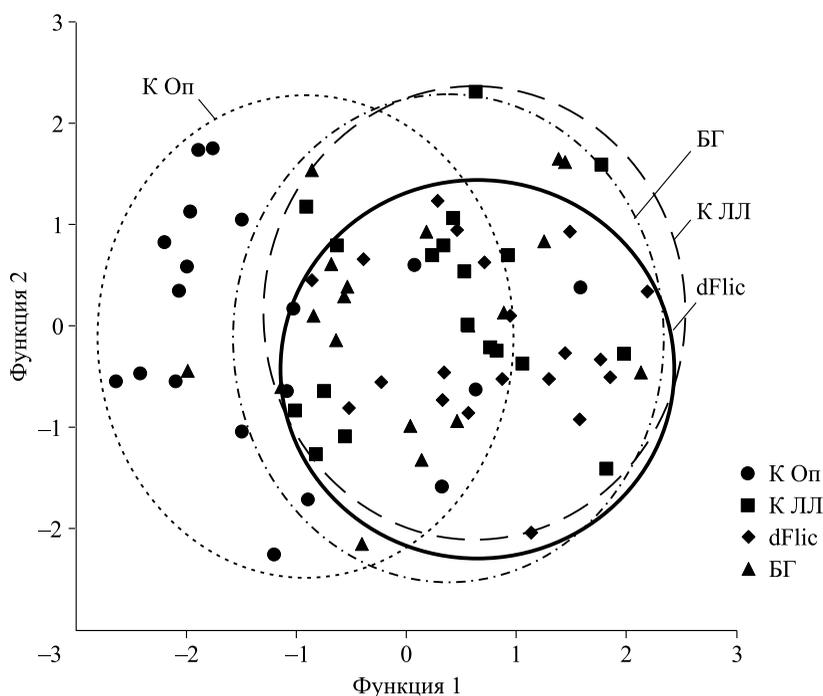


Рис. 3. Разделение групп мышей с карциномой Эрлиха на 15-е сутки после общего облучения в дозе 4 Гр по результатам дискриминантного анализа

Fig. 3. Grouping of mice with Ehrlich's carcinoma on day 15 after 4 Gy total body irradiation (the results of the discriminant analysis)

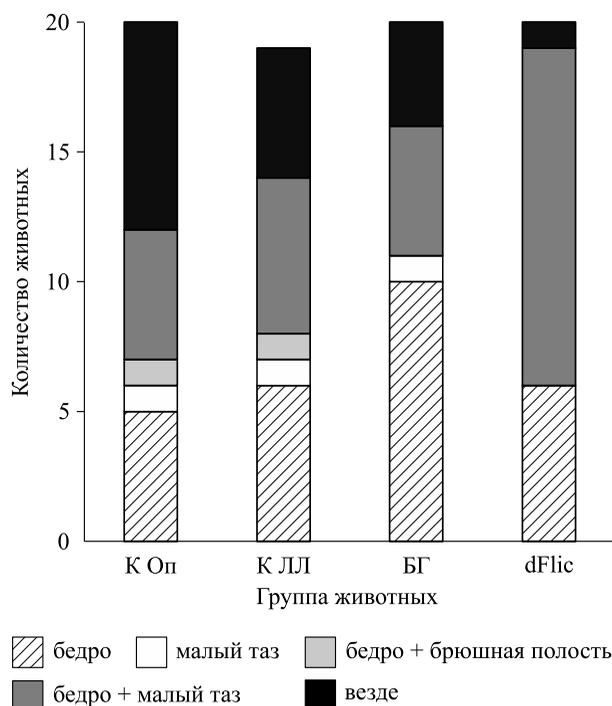


Рис. 4. Результаты оценки прорастания опухоли у мышей линии BALB/c с перевитой карциномой Эрлиха

Fig. 4. Evaluation of Ehrlich tumor germination in BALB/c mice

после облучения и/или уменьшения распространения опухолевых клеток из первичного очага в другие ткани, однако данный эффект требует дальнейшего подтверждения и более детального изучения.

Разнонаправленное влияние противолучевых препаратов в условиях радиационного воздействия на здоровые ткани, обладающие высокой скоростью клеточной пролиферации (костный мозг, ЖКТ, репродуктивные органы и др.), или ткани неоплазии, сопоставимые по скорости пролиферации, является, казалось бы, парадоксальным явлением, однако находит подтверждение в работах ряда исследователей. Так, в экспериментах на мышах показано, что радиопротектор амифостин избирательно защищал от радиационного поражения нормальные гепатоциты, в то время как клетки гепатомы HepG2 становились более чувствительными к лучевой терапии, при этом степень защиты коррелировала с уровнем экспрессии индуцируемого гипоксией фактора HIF-1 α [14]. Ученые-радиобиологи под руководством Л.М. Рождественского показали, что применение радиомодификатора и иммуномодулятора беталейкина – отечественного рекомбинантного препарата ИЛ-1 β человека – на фоне локально-

го рентгеновского облучения в дозе 20 Гр перевивной карциномы Льюис у мышей C57Bl/6 с не ухудшало результатов лучевой терапии во всех вариантах проведения экспериментов. Кроме того, зарегистрированы отдельные эпизоды удлинения продолжительности стадии задержки роста опухоли и тенденция к замедлению скорости развития опухолевого процесса [15].

В исследованиях М.В. Филимоновой и соавт. проведено экспериментальное сравнение радиомодифицирующего действия производного изотиомочевины INOS1 при местном лучевом лечении перевиваемой карциномы Эрлиха у мышей в отношении опухоли или клеток нормального эпителия кожи. Лучевое лечение осуществляли в двух режимах – однократно в дозе 30 Гр или двумя фракциями по 20 Гр каждая, INOS1 вводили перед сеансом облучения. При применении INOS1 регистрировали снижение тяжести острой лучевой реакции кожи, что подтверждало его радиозащитное действие, вместе с тем влияния данного соединения на радиочувствительность карциномы Эрлиха практически не наблюдали [16]. Изучение *in vitro* радиозащитного и радиосенсибилизирующего действия нейтрального водорастворимого бета-D-глюкана ламинарана из бурой водоросли *Dictyota dichotoma* и его сульфатированного производного показало, что оба полисахарида защищают нормальные клетки эпидермиса от лучевого поражения, при этом сульфатированный ламинаран также повышал чувствительность клеток меланомы к рентгеновскому излучению, что способствовало значительному подавлению пролиферации опухолевых клеток, их колониеобразованию и миграции [17].

Продемонстрировано прямое цитотоксическое действие полисахаридных комплексов из лекарственных грибов, в том числе из вешенки обыкновенной, на опухолевые клетки, что свидетельствует о потенциале данной биологически активной субстанции в качестве противоопухолевого средства широкого спектра действия. В частности, оценка цитотоксичности селеносодержащего полисахаридного комплекса из гриба *P. ostreatus* (Se-POP-21) в отношении опухолевых и нормальных клеток разных линий выявила дозозависимое снижение выживаемости клеток всех опухолевых культур (HepG2, MCF-7, SKOV3, HeLa и PC-3): применение Se-POP-21 в концентрации 600 мкг/мл подавляло их рост на 41–53 % и ингибировало миграцию раковых клеток. Значимого влияния на рост нормальных клеток всех линий (L02, MCF-10A и IOSE) не наблюдалось. Потенциальный противоопухолевый механизм Se-POP-21 заключается в изменении соотношения про- и противоапоптотических

белков Вах/Vcl-2 и блокировании эпителиально-мезенхимального перехода в клетках, который считается одним из ранних процессов, приводящих к диссеминации опухоли [18]. Данные, полученные *in vivo* на мышинной модели саркомы мягких тканей, подтвердили противоопухолевую активность полисахаридного комплекса из гриба *P. ostreatus* после 10-кратного введения, начиная с первых суток после перевивки опухоли. На 21-е сутки после трансплантации опухолевых клеток S-180 в количестве 5×10^6 клеток/мышь зарегистрировано уменьшение объема опухоли на 74,1, 75,5 и 53,7 % соответственно в зависимости от дозы грибного экстракта – 10, 30 и 50 мг/кг [19].

Сопровождение лучевой терапии – основное направление разработки флагеллин-содержащих препаратов второго поколения. В настоящее время в мире создано и изучается несколько производных энтолимода, обладающих сниженной иммуногенностью в результате генно-инженерной перестройки молекулы, наиболее перспективными из них являются KMRC011, разработанный корейскими учеными (Kangwon National University и Korea Institute of Industrial Technology), прошедший цикл доклинических исследований радиозащитного действия на разных видах животных и клиническую оценку безопасности [20], и GP532, для разработки которого с целью обеспечения возможности применения нескольких доз использован структурно-ориентированный реинжиниринг [7].

В нашей работе использован вариант флагеллин-содержащего рекомбинантного белка, сконструированного отечественными учеными с помощью оригинального технологического решения, которое позволило получить новое производное рекомбинантного флагеллина, лишённого антигенных свойств.

Учитывая, что лучевое лечение опухолей нередко сочетается с химиотерапией, а также схожесть клинического течения и патогенеза острого цитотоксического синдрома с костномозговой формой острой лучевой болезни [21], можно предположить, что исследованные биотехнологические препараты могут быть успешно применены для снижения нежелательных эффектов противоопухолевых химиотерапевтических средств.

Заключение

Применение хитин-глюканового комплекса из вешенки обыкновенной, содержащего бета-D-глюканы, или нового варианта делетированного рекомбинантного флагеллина в профилактической схеме до общего облучения в дозе 4 Гр мышей BALB/c не приводило к стимуляции

опухолевого роста, не ухудшало общего состояния животных и не снижало продолжительность жизни животных с перевитой карциномой Эрлиха. Данные по оценке торможения роста опухолевых узлов у облученных мышей показали умеренную противоопухолевую эффективность использованного варианта лучевого лечения на 12-е сутки после трансплантации опухолевых клеток; при применении обоих препаратов в отдельные сроки опыта наблюдали слабо выраженную транзиторную тенденцию к увеличению эффективности радиотерапии на 4–6 %. Экспериментальное лучевое воздействие способствовало снижению степени распространения опухолевого процесса по сравнению с необлученными мышами, при этом профилактическое использование рекомбинантного флагеллина и бета-D-глюкана приводило к незначительной положительной модификации лучевых эффектов, препятствуя проращению опухоли в близлежащие органы и ткани животных.

Таким образом, изучение действия рентгеновского излучения в сочетании с хитин-глюкановым комплексом из гриба вешенка обыкновенная (субстанция глюоран) или рекомбинантным флагеллином показало отсутствие негативного влияния перспективных биотехнологических противолучевых препаратов, разработанных отечественными специалистами, на противоопухолевый эффект радиационного воздействия и подтверждает возможность их применения в качестве средств сопровождения лучевой терапии опухолей.

Список литературы / References

1. Лезега В.И., Драчев И.С., Чепур С.В. Осложнения лучевой противоопухолевой терапии (клиника, патогенез, профилактика, лечение). СПб.: СпецЛит, 2022. 207 с.
2. Legeza V.I., Drachev I.S., Chepur S.V. Complications of radiation antitumor therapy (clinical presentation, pathogenesis, prevention, treatment). Saint-Petersburg: SpetsLit, 2022. 207 p. [In Russian].
3. de Ruyscher D., Niedermann G., Burnet N.G., Siva S., Lee A.W.M., Hegi-Johnson F. Radiotherapy toxicity. *Nat. Rev. Dis. Prim.* 2019;5(1):13. doi: 10.1038/s41572-019-0064-5
4. Patyar R.R., Patyar S. Role of drugs in the prevention and amelioration of radiation induced toxic effects. *Eur. J. Pharmacol.* 2018;819:207–216. doi: 10.1016/j.ejphar.2017.12.011
5. Singh V.K., Seed T.M. The efficacy and safety of amifostine for the acute radiation syndrome. *Expert Opin. Drug Saf.* 2019;18(11):1077–1090. doi: 10.1080/14740338.2019.1666104

5. Lu Y., Swartz J.R. Functional properties of Flagellin as a stimulator of innate immunity. *Sci. Rep.* 2016;12(6):18379. doi: 10.1038/srep18379
6. Singh V.K., Seed T.M. Entolimod as a radiation countermeasure for acute radiation syndrome. *Drug Discov. Today.* 2021;26(1):17–30. doi: 10.1016/j.drudis.2020.10.003
7. Mett V., Kurnasov O.V., Bepalov I.A., Molodtsov I., Brackett C.M., Burdelya L.G., Purmal A.A., Gleiberman A.S., Toshkov I.A., Burkhart C.A., ... Osterman A.L. A deimmunized and pharmacologically optimized Toll-like receptor 5 agonist for therapeutic applications. *Commun. Biol.* 2021;4(1):466. doi: 10.1038/s42003-021-01978-6
8. Chugh R.M., Mittal P., Мр N., Arora T., Bhat-tacharya T., Chopra H., Cavalu S., Gautam R.K. Fungal mushrooms: a natural compound with therapeutic applications. *Front. Pharmacol.* 2022;13:925387. doi: 10.3389/fphar.2022.925387
9. Sharma A., Sharma A., Tripathi A. Biological activities of Pleurotus spp. polysaccharides: A review. *J. Food Biochem.* 2021;45(6):13748. doi: 10.1111/jfbc.13748
10. Wang W., Xue C., Mao X. Radioprotective effects and mechanisms of animal, plant and microbial polysaccharides. *Int. J. Biol. Macromol.* 2020;153:373–384. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.02.203
11. Мурзина Е.В., Софронов Г.А., Аксенова Н.В., Веселова О.М., Гребенюк А.Н., Духовлинов И.В., Орлов А.И. Экспериментальная оценка противолучевой эффективности рекомбинантного флагеллина. *Вестн. Рос. воен.-мед. акад.* 2017;(3):122–128. doi: 10.17816/brmma623038
12. Мурзина Е.В., Софронов Г.А., Симбирцев А.С., Аксенова Н.В., Загородников Г.Г., Веселова О.М., Жирнова Н.А., Дмитриева Е.В., Климов Н.А., Воробейчиков Е.В. Влияние бета-D-глюкана на выживаемость и гемопэтические показатели мышей после воздействия рентгеновского излучения. *Мед. акад. ж.* 2023;23(1):53–66. doi: 10.17816/MAJ114742
13. Вершинина С.Ф., Стуков А.Н. Справочник по экспериментальной терапии опухолей. СПб.: Репринт, 2008. 36 с.
14. Vershinina S.F., Stukov A.N. Handbook of Experimental Tumor Therapy. Saint-Petersburg: Reprint, 2008. 36 p. [In Russian].
15. Рожественский Л.М., Липенгольц А.А., Лисина Н.И., Романова К.Ю. Оценка влияния радиомодификатора беталейкина на рост облученной перевивной карциномы Льюиса у мышей. *Радиац. биол. Радиоэкол.* 2021;61(6):625–631. doi: 10.31857/S0869803121060096
16. Филимонова М.В., Самсонова А.С., Корнеева Т.С., Шевченко Л.И., Филимонов А.С. Исследование способности нового ингибитора синтаз оксида азота INOS1 селективно защищать нормальные ткани на модели лучевой терапии карциномы Эрлиха. *Радиация и риск.* 2017;27(2):37–45. doi: 10.21870/0131-3878-2018-27-2-37-45
17. Malyarenko O.S., Usoltseva R.V., Zvyagintseva T.N., Ermakova S.P. Laminaran from brown alga Dictyota dichotoma and its sulfated derivative as radioprotectors and radiosensitizers in melanoma therapy. *Carbohydr. Polym.* 2019;206:539–547. doi: 10.1016/j.carbpol.2018.11.008
18. Zhang Z., Zhang Y., Liu H., Wang J., Wang D., Deng Z., Li T., He Y., Yang Y., Zhong S. A water-soluble selenium-enriched polysaccharide produced by Pleurotus ostreatus: Purification, characterization, antioxidant and antitumor activities in vitro. *Int. J. Biol. Macromol.* 2021;168:356–370. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.12.070
19. Wisbeck E., Facchini J.M., Alves E.P., Silveira M.L., Gern R.M., Ninow J.L., Furlan S.A. A polysaccharide fraction extracted from Pleurotus ostreatus mycelial biomass inhibit Sarcoma 180 tumor. *An. Acad. Bras. Cienc.* 2017;89(3 Suppl):2013–2020. doi: 10.1590/0001-3765201720150635

20. Yang E., Choi H., Park J.S., Noh Y.W., Choi C.M., Lee W.J., Ko J.W., Kim J. A first-in-human study of KMRC011, a potential treatment for acute radiation syndrome, to explore tolerability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics. *Clin. Transl. Sci.* 2021;14(6):2161–2170. doi: 10.1111/cts.13073

21. Кокая Г.Н., Кокая А.А., Зацепин В.В., Мухина И.В., Мавренков Э.М. Особенности течения костномозговой формы острой лучевой болезни и острого цитотоксического синдрома у мышей. *Соврем. наука: актуал. пробл. теории и*

практ. Сер. Естеств. и техн. науки. 2023;(4):14–22. doi: 10.37882/2223–2966.2023.04.17

Kokaya G.N., Kokaya A.A., Zatsepin V.V., Mukhina I.V., Mavrenkov E.M. Features of the course of the bone marrow form of acute radiation sickness and acute cytotoxic syndrome in mice. *Sovremennaya nauka: aktual'nyye problemy teorii i praktiki. Seriya: Yestestvennyye i tekhnicheskiye nauki = Modern Science: Topical Problems of Theory and Practice. Series: Natural and Technical Sciences.* 2023;(4):14–22. [In Russian]. doi: 10.37882/2223–2966.2023.04.17

Сведения об авторах:

Мурзина Елена Викторовна, к.б.н., ORCID: 0000-0001-7052-3665, e-mail: elenmurzina@mail.ru

Федорос Елена Ивановна, к.м.н., ORCID: 0000-0002-2426-9843, e-mail: elenafedoros@gmail.com

Ермакова Елена Дмитриевна, ORCID: 0000-0003-0259-2567, e-mail: helenermakova@mail.ru

Аксенова Наталия Владимировна, к.м.н., ORCID: 0000-0002-5645-7072, e-mail: nataaks@mail.ru

Воробейчиков Евгений Владимирович, к.м.н., e-mail: evorobeychikov@gmail.com

Симбирцев Андрей Семенович, д.м.н., проф., чл.-корр. РАН, ORCID: 0000-0002-8228-4240, e-mail: simbas@mail.ru

Софронов Генрих Александрович, д.м.н., проф., академ. РАН, ORCID: 0000-0002-8587-1328, e-mail: gasofronov@mail.ru

Information about the authors:

Elena V. Murzina, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0001-7052-3665, e-mail: elenmurzina@mail.ru

Elena I. Fedoros, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-2426-9843, e-mail: elenafedoros@gmail.com

Elena D. Ermakova, ORCID: 0000-0003-0259-2567, e-mail: helenermakova@mail.ru

Natalia V. Aksenova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-5645-7072, e-mail: nataaks@mail.ru

Evgeniy V. Vorobeychikov, candidate of medical sciences, e-mail: evorobeychikov@gmail.com

Andrei S. Simbirtsev, doctor of medical sciences, professor, corresponding member of the RAS, ORCID: 0000-0002-8228-4240, e-mail: simbas@mail.ru

Genrikh A. Sofronov, doctor of medical sciences, professor, academician of the RAS, ORCID: 0000-0002-8587-1328, e-mail: gasofronov@mail.ru

Поступила в редакцию 07.11.2024

После доработки 01.12.2024

Принята к публикации 11.02.2025

Received 07.11.2024

Revision received 01.12.2024

Accepted 11.02.2025