

На правах рукописи

СЕМЕНОВ

Александр Леонидович

**Химиопрофилактика индуцированного гамма-излучением
канцерогенеза в эксперименте**

14.01.12 – онкология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург

2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

Беспалов Владимир Григорьевич

Официальные оппоненты:

Важенин Андрей Владимирович - доктор медицинских наук, профессор, академик Российской академии наук, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Южно-Уральский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой онкологии, лучевой диагностики и лучевой терапии

Быков Владимир Николаевич - доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», научный сотрудник лаборатории продолжительности жизни и генетики старения

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «__» _____ 2019 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д208.052.01 при ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России по адресу: 197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, д. 68.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Минздрава России (197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, д. 68) и на сайте <http://www.niioncologii.ru> с «__» _____ 2019 г.

Автореферат разослан «__» _____ 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук

Филатова Лариса Валентиновна

ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Человек может подвергаться воздействию ионизирующего излучения в различных областях. Достаточно большое количество профессий связаны с потенциальным воздействием радиации: медицинские работники, выполняющие диагностические и лечебные процедуры с использованием ионизирующего излучения, экипажи самолетов, работники шахт глубокого залегания, работники атомной промышленности (Wakeford, 2009). Одним из наиболее опасных отдаленных последствий воздействия ионизирующего излучения является возникновение злокачественных новообразований. У жителей Хиросимы и Нагасаки, переживших атомную бомбардировку, наблюдалось повышение частоты новообразований большинства локализаций в отдаленные сроки после облучения (Shimizu et al., 1991). Среди проживающих на загрязненных в результате Чернобыльской аварии областях зафиксировано возрастание частоты лейкозов и рака щитовидной железы (Moysich et al., 2002). В случае применения ионизирующего излучения для лечебных и диагностических целей облучению подвергаются отдельные участки человеческого тела, что определяет возможный повышенный риск возникновения новообразований определенных локализаций (Ron, 2003).

Одной из мер предотвращения отдаленных онкологических последствий у людей, подвергшихся воздействию канцерогенных факторов, является использование средств для химиопрофилактики рака. Поиск таких средств проводится с 60-х годов прошлого века и является одним из актуальных направлений противораковой борьбы (Александров, Беспалов, 1991; Davis, Wu, 2012). Химиопрофилактику рака определяют как торможение или задержку процесса канцерогенеза с помощью применения лекарственных препаратов или природных веществ. Средства для химиопрофилактики рака должны отвечать следующим основным требованиям: способность предупреждать возникновение и развитие злокачественной опухоли определенной локализации или ряда локализаций; возможность применения в течение длительного времени; отсутствие токсических эффектов и побочных действий или минимальная токсичность; желательные дополнительные благоприятные свойства, достигаемые в более короткие сроки; лекарственные формы должны быть только пероральными (Беспалов, 2005). Потенциально всем этим требованиям отвечают препараты на основе лекарственных растений, и, особенно, так называемые классические фитоадаптогены.

Если в качестве ингибиторов химически индуцированного канцерогенеза изучены сотни различных препаратов и веществ, то торможению радиационного канцерогенеза в литературе посвящены лишь единичные публикации. Например, гипополипидемические препараты безафибрат (Inano et al., 1996) и симвастатин (Inano et al., 1997), полифенольный агент куркумин, выделенный из корневища *Curcuma longa*, оказывали антиканцерогенное действие на развитие опухолей молочной железы, индуцированных ионизирующим излучением в пренатальный период с последующей промоцией диэтилстильбэстролом у самок крыс. Низкокалорийная диета тормозила развитие опухолей различных органов у самок (в основном новообразований молочной железы) и самцов крыс, подвергнутых тотальному облучению всего тела (Gross, Dreyfuss, 1990). Вместе с тем риск побочных эффектов безафибрата, симвастатина, низкокалорийной диеты при длительном применении ставит под сомнение возможность их практического использования для предупреждения отдаленных онкологических последствий ионизирующего облучения.

В качестве потенциальных ингибиторов радиационного канцерогенеза в настоящей работе выбраны четыре адаптогена растительного происхождения: женьшень обыкновенный *Panax ginseng* C. A. Mey. семейства Araliaceae, элеутерококк колючий *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim. семейства Araliaceae, лабазник *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim семейства Rosaceae и левзея сафлоровидная *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin семейства Asteraceae. У всех четырех растительных препаратов установлена антиканцерогенная активность. Наиболее изучен в этом отношении женьшень как в экспериментальных, так и в эпидемиологических и клинических исследованиях; антиканцерогенная активность элеутерококка и левзеи изучалась только в экспериментах. Однако способность тормозить развитие опухолей у всех четырех фитоадаптогенов показана только на моделях химически индуцированного канцерогенеза у животных.

Для сравнительного изучения на модели радиационного канцерогенеза избран синтетический препарат из группы ингибиторов клеточной пролиферации – α -дифторметилорнитин (ДФМО).

В модели канцерогенеза в качестве иницирующего фактора применено γ -облучение самок крыс, так как у них в сравнении с самцами ионизирующая радиация вызывает большее количество и более широкий спектр опухолей (Gross, Dreyfuss, 1990).

Степень разработанности темы исследования

В литературе уже имеется достаточно много результатов исследований по химиопрофилактике рака, индуцированного химическим канцерогенезом, как с использованием ДФМО так и растительных препаратов, вместе с тем они мало изучены в качестве потенциальных ингибиторов радиационного канцерогенеза, что определяет актуальность работы. Вместе с тем скрининг и отбор препаратов, направленных на профилактику отдаленной лучевой патологии, является достаточно длительными и затратными, поэтому также актуальна разработка технологий, позволяющих ускорить этот процесс.

Цель исследования

Выявить средства из числа фитоадаптогенов, предупреждающие канцерогенез, индуцированный γ -излучением в эксперименте на самках крыс.

Задачи исследования

1. Дать характеристику модели вызываемого γ -излучением канцерогенеза у самок крыс по частоте и множественности, локализации и гистологическому типу индуцированных опухолей, выживаемости животных и определить возможность использования модели для поиска средств химиопрофилактики радиационного канцерогенеза.
2. Оценить влияние антипролиферативного лекарственного препарата α -дифторметилорнитина на индуцированный γ -излучением канцерогенез у самок крыс.
3. Оценить влияние биотехнологического лекарственного препарата, настойки культуры корня женьшеня обыкновенного, на индуцированный γ -излучением канцерогенез у самок крыс.
4. Оценить влияние лекарственного препарата, настойки элеутерококка колючего, на индуцированный γ -излучением канцерогенез у самок крыс.

5. Оценить влияние отвара цветков лабазника вязолистного на индуцированный γ -излучением канцерогенез у самок крыс
6. Оценить влияние лекарственного препарата, настойки корневищ левзеи сафлоровидной, на индуцированный γ -излучением канцерогенез у самок крыс.
7. Сопоставить профилактические эффекты α -дифторметилорнитина и растительных препаратов на показатели радиационного канцерогенеза.
8. Оценить влияние препаратов α -дифторметилорнитина, элеутерококка колючего и левзеи сафлоровидной на пострадиационные изменения показателя генотоксичности ДНК-содержащих клеток крови животных, а также информационную значимость восстановления этого индекса через 1 месяц после облучения.

Научная новизна

Экспериментальная модель радиационного канцерогенеза пригодна для изучения средств химиопрофилактики отдаленных онкологических последствий ионизирующей радиации. Изучена активность препаратов ДФМО, женьшеня обыкновенного, элеутерококка колючего, лабазника вязолистного и левзеи сафлоровидной в качестве средств химиопрофилактики радиационного канцерогенеза в эксперименте. Проведено сравнение антиканцерогенной активности синтетического препарата ДФМО и растительных средств на модели радиационного канцерогенеза. Показана возможность использования экспериментальной технологии, основанной на определении степени восстановления ДНК крови через 1 месяц после лучевого воздействия, для предикции эффективности средств профилактики радиационного канцерогенеза.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Результаты работы могут быть применимы для использования в различных областях, связанных с действием ионизирующей радиации на человека. Выбранные по результатам работы наиболее эффективные химиопрофилактические средства предлагаются для дальнейшего клинического изучения и последующего практического применения с целью профилактики отдаленных онкологических последствий у медицинского персонала и представителей других профессий, контактирующих с источниками ионизирующего излучения; у пациентов, проходящих частые обследования с использованием ионизирующего излучения, или получающих курсы лучевой терапии; у ликвидаторов последствий аварий на АЭС и других ядерных катастроф; у населения, проживающего на территориях, загрязненных радиоактивными осадками. Разработанная технология оценки генотоксичности после тестирующих лучевых воздействий может быть рекомендована для ускоренного скрининга потенциальных химиопрофилактических препаратов, противодействующих развитию злокачественных новообразований отдельных локализаций в результате γ -облучения.

Положения, выносимые на защиту

1. Общее равномерное γ -облучение крыс самок в дозе 4 Гр приводит к значимому увеличению общей частоты и множественности опухолей, а также злокачественных новообразований в различных органах по сравнению с интактными животными.
2. α -Дифторметилорнитин является универсальным ингибитором радиационного канцерогенеза; он значимо снижает общую частоту и множественность как всех

- индуцированных опухолей суммарно, так и злокачественных новообразований, исключая группу эндокринных и репродуктивных органов.
3. Настойка корня женьшеня обыкновенного (*Panax ginseng*) по выраженности ингибирующего действия на радиационный канцерогенез сравнима с действием α -дифторметилорнитина; она статистически значимо снижает общую частоту и множественность всех индуцированных опухолей суммарно, в том числе злокачественных, в частности новообразований в молочной железе, органах эндокринной и репродуктивной системы, но не прочих, более редких локализаций.
 4. Настойка корня элеутерококка колючего (*Eleutherococcus senticosus*) и отвар цветков лабазника вязолистного (*Fillipendula ulmaria*) по выраженности и универсальности ингибирующего действия на радиационный канцерогенез уступают α -дифторметилорнитину; оба средства статистически значимо снижают частоту и/или множественность индуцированных злокачественных и доброкачественных опухолей; элеутерококк тормозит преимущественно развитие опухолей прочих локализаций, лабазник – опухолей молочной железы. Настойка корня левзеи сафлоровидной (*Rhaponticum carthamoides*) не влияет значимо на радиационный канцерогенез.
 5. Через 30 сут после облучения крыс по сравнению с интактным контролем значимо повышается индекс ДНК – содержание ДНК на число лейкоцитов крови. Изменения индекса ДНК коррелируют с вариациями развивающихся злокачественных новообразований в репродуктивных и эндокринных органах при введении облученным крысамДФМО, элеутерококка или левзеи.

Степень достоверности и апробация результатов

Результаты диссертационного исследования достоверны и обоснованы, что обеспечивается достаточным количеством использованных в эксперименте животных, использованием адекватных задачам работы методов исследования и статистического анализа полученных данных. Основные положения диссертации доложены на Российской конференции "Фундаментальная онкология – Петровские чтения" 20 апреля 2012 г.; на Всероссийской конференции молодых ученых ФГБУ «НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург, 27 марта 2013 г.; VIII Съезде онкологов и радиологов СНГ и Евразии, Казань, 16–18 сентября 2014 г.; на Российской научной конференции с международным участием «Медико–биологические проблемы токсикологии и радиобиологии» 4–6 июня 2015 г. Работа удостоена почетной грамоты победителя программы «Участник Молодежного Научно–Инновационного конкурса» («У.М.Н.И.К.»).

По теме диссертации опубликовано 17 работ, из которых – 8 статьи в научных журналах, рекомендованных ВАК.

Личный вклад автора

Автором лично проведен поиск и анализ отечественной и зарубежной литературы, разработан дизайн исследования, выполнены все этапы эксперимента, обработаны и проанализированы результаты исследования, внесен основной вклад в написание публикаций по теме исследования.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 14.01.12 – «онкология», пункт 1.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 130 страницах машинописного текста и состоит из введения, 3 глав, обсуждения результатов и заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, содержащего 163 источников, в том числе 34 отечественных и 129 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 10 таблицами и 29 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В экспериментах использованы аутбредные крысы Вистар собственной разводки НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова. Данные животные происходят из линии Вистар разводки питомника ФГУП "Питомник лабораторных животных "Рапполово" (Россия, Ленинградская область), впоследствии поддерживаемые в разводе НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова (Санкт-Петербург). На протяжении более 20 лет они использовались в ряде лабораторий НИИ онкологии, хорошо изучены их различные параметры и, прежде всего, частота и спектр спонтанных опухолей, продолжительность жизни, чувствительность к действию различных канцерогенных агентов и других модифицирующих факторов (Anisimov et al., 1989; Виноградова и др., 2007; Vinogradova et al., 2009). Всего в диссертационном исследовании было использовано 705 половозрелых крыс–самок в возрасте 3–4 месяцев, массой тела 140–160 гр. Животные содержались в соответствии с ГОСТ Р 53434–2009, в виварии барьерного типа в условиях стандартного светового режима (12ч/12ч день/ночь), при температуре воздуха в комнате 20–23°C и относительной влажности воздуха – 54–58%.

Все манипуляции с животным проводились в соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (принята в Страсбурге 18.03.1986 и подтверждена 15.06.2006) и по правилам ГОСТ 33216–2014 "Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами". Исследование было одобрено Локальным этическим комитетом НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России.

Крысы ежедневно получали стандартный полнорационный гранулированный комбикорм (рецепт ПК–120, ГОСТ Р 50.258–92), предназначенный для содержания лабораторных грызунов, производства компании "Лабораторкорм" (Москва).

Схема проведения экспериментов представлена на рисунке 1.

1. Индукция радиационного канцерогенеза

Животные подвергались индивидуально однократному тотальному γ -облучению в дозе 4 Гр на установке ИГУР–1 (^{137}Cs , мощность дозы 1,34 Гр/мин.). Облучение производилось в утренние часы с 9.00 до 12.00. Контрольные крысы помещались в установку на такой же срок, что и подопытные, но без облучения.

2. Используемые препараты

В качестве модифицирующих факторов были использованы пять препаратов, потенциально обладающих способностью ингибировать канцерогенез (один из которых – синтетический, четыре других – натурального происхождения):

1. α -Дифторметилорнитин (ДФМО) производства Merrel Dow Research Institute (США). ДФМО – синтетический аналог орнитина, необратимый ингибитор орнитин–декарборксилазы. Препарат представляет собой белый кристаллический порошок, хорошо растворимый в воде.

2. Элеутерококк колючий (*Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim.). Препарат представляет собой официальную спиртовую настойку корня элеутерококка

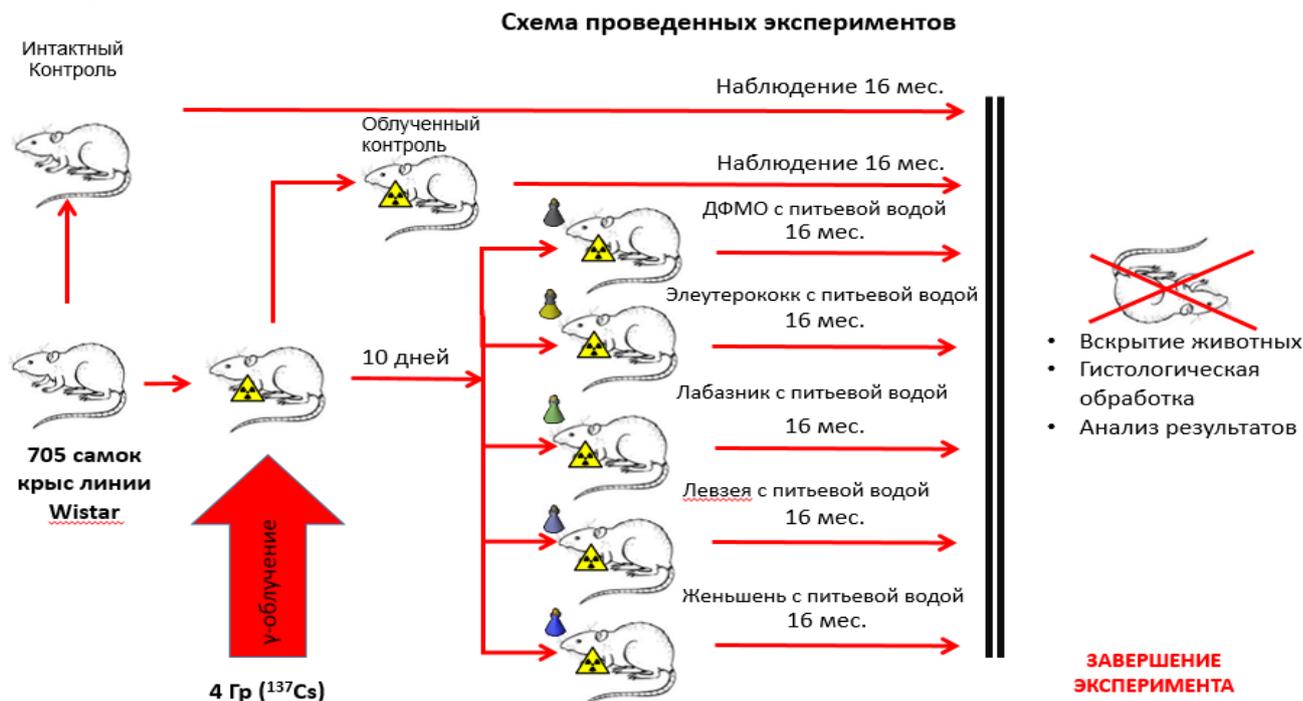


Рисунок 1. Схема экспериментов определения эффективности препаратов на модели радиационно–индуцированного канцерогенеза.

производства экспериментального цеха Горно–таежной станции Дальневосточного отделения РАН, Россия. Перед употреблением настойку препарата деалкоголизировали в вакуумно–роторном испарителе в течение 12 ч, а затем к остатку добавляли воду до первоначального объема взятой настойки.

3. Лабазник вязолистный (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.). Цветки лабазника собирали в июне–июле на Карельском перешейке. Заготовку и контроль проводили в соответствии с требованиями фармакопейных статей. Контроль проводили в Ботаническом институте им. В.Л. Комарова РАН. В экспериментах использованы водные экстракты лекарственного растения. Сырье измельчали, заливали водой в соотношении 1:10 и настаивали на кипящей водяной бане в течение 15 мин. После этого настой остужали, процеживали, разбавляли до необходимого объема.

3. Левзея сафлоровидная (*Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Ijtin). Препарат представляет собой официальную спиртовую настойку корневищ левзеи производства Томского химфармзавода, Россия. Перед употреблением настойку препарата деалкоголизировали в вакуумно–роторном испарителе в течение 12 ч, а затем к остатку добавляли воду до первоначального объема взятой настойки.

4. Биоженьшень – биотехнологический лекарственный культуральный препарат женьшеня (*Panax ginseng* С.А.Меу.) – официальная спиртовая настойка из биомассы культуры ткани корня женьшеня (1:10 на 40% этиловом спирте). Использовался биоженьшень производства Киришского биохимического завода (г. Кириши Ленинградской области). Перед употреблением настойку препарата dealкоголизировали в вакуумно–роторном испарителе в течение 12 ч, а затем к остатку добавляли воду до первоначального объема взятой настойки.

3. Рандомизация животных, формирование экспериментальных групп

Первая серия экспериментов

Рандомизация животных производилась методом случайных чисел перед облучением. Формировалась группа 1 (интактный контроль) – 95 крыс, в которой животные никаким воздействиям не подвергались. Остальные крысы подвергались однократному тотальному облучению в дозе 4 Гр, и из них были сформированы – группа 2 (облученный контроль 1) – 120 крыс, группа 3 (облучение + ДФМО) – 100 крыс, группа 4 (облучение + элеутерококк) – 100 крыс, группа 5 (облучение + лабазник) – 90 крыс, группа 6 – 100 крыс (облучение + левзея).

В группе 2 крысы другим дополнительным воздействиям не подвергались. В группе 3 крысам с 10–го дня после облучения и до конца эксперимента давали с питьевой водой ДФМО в дозе 2 г/л. В группе 4 крысам в эти же сроки после облучения давали с питьевой водой настойку корня элеутерококка в концентрации 10 мл/л. В группе 5 крысам в эти же сроки после облучения давали в качестве питьевой воды отвар цветков лабазника в концентрации 10 г на литр в пересчете на воздушно–сухое сырье. В группе 6 крысам с 10–го дня после облучения и до конца эксперимента давали с питьевой водой настойку корневищ левзеи в концентрации 10 мл/л.

Вторая серия экспериментов

Рандомизация животных производилась методом случайных чисел перед облучением. Крысы подвергались однократному тотальному γ -облучению в дозе 4 Гр как и в первой серии, и из них были сформированы группа 7 (облученный контроль 2) – 50 крыс, и группа 8 (облучение + женьшень) – 50 крыс. В группе 7 все 50 крыс другим дополнительным воздействиям не подвергались. В 8–й группе все крысы с 10–го дня после облучения и до конца эксперимента давали с питьевой водой настойку биомассы культуры ткани корня женьшеня с питьевой водой в концентрации 20 мл/л.

4. Методика оценки нарушений структуры ДНК клеток крови

Гематологические и токсикогеномные показатели определяли у животных индивидуально прижизненно, путем взятия 0,05 мл крови из хвоста крыс через 30 сут после γ -облучения. Токсикогеномные эффекты в лейкоцитах крыс оценивали с помощью экспресс–метода, который позволял с помощью флуорохрома – 4',6–диамидино–2–фенилиндола определить величину индекса ДНК (ИД) – содержания ДНК нуклеоидов в расчёте на лейкоцит, как описано ранее (Иванов и др., 2011). Измерения флуоресценции проводили на флуоресцентном спектрофотометре “Model–850” (“Hitachi”, Япония) при $\lambda_{возб} = 350$ нм и $\lambda_{эмис} = 450$ нм. Общее количество лейкоцитов крови подсчитывали камерно–меланжерным методом с помощью камеры Горяева. Значение ИД лейкоцитов периферической крови интактных крыс (выраженные в отн. ед./кл) принимали соответствующим диплоидному (2с) содержанию ДНК белых клеток крови. Увеличение величины ИД более 2с было обусловлено повышением количества клеток с гиперанеу/тетраплоидным содержанием ДНК, что было установлено в сопоставлении величин ИД с результатами

цитогенетического анализа тех же проб в специальных экспериментах (Иванов и др., 2008).

Регрессионный анализ индивидуальных значений числа гиперанеу- и полиплоидных лимфоцитов (%), определенных стандартным методом (Monakhov et al., 1992) и соответствующих им значений ИД лейкоцитов крови крыс выявил значимую ($R = 0,99$; $p < 0,01$) взаимосвязь между этими показателями: гиперанеу/полипл (%) = $0,1 + 0,14 \times \text{ИД}$ (отн.ед./кл). Таким образом, вышеописанный способ определения ИД в крови крыс, верифицированный в модельных радиационно-ртутных воздействиях, дал возможность оценить процент гиперанеуплоидных и полиплоидных лимфоцитов. Вместе с тем, большинство генотоксических тестов, используемых для биотестирования повреждающих воздействий, требует достаточно длительного времени для определения соответствующих показателей. Для определения величины ИД необходимо всего 0,05 мл крови и 10–15 мин. Следовательно, использование этого показателя позволяет гораздо оперативнее осуществлять контроль и можно рекомендовать его для экспрессной оценки токсикогеномных эффектов физико-химических воздействий в соматических клетках мелких лабораторных животных в серийных экспериментах.

5. Аутопсия и гистологическая обработка тканей

За крысами наблюдали в течение 16 мес. Животные регулярно взвешивались (1 раз в нед), отмечались токсические проявления. Крыс в терминальном состоянии и оставшихся на момент окончания эксперимента забивали парами эфира.

Всех павших и забитых крыс подвергали полной аутопсии, а затем осуществляли стандартную гистологическую обработку.

Препараты анализировались методом световой микроскопии на лабораторном бинокулярном микроскопе «Leica» (Leica Microsystems, Германия). Патоморфологическую диагностику опухолей крыс проводили согласно классификации Международного агентства по изучению рака (Tugusov and Mohr, 1990).

6. Методы оценки влияния препаратов на радиационный канцерогенез

Оценивали влияние препаратов на параметры развития опухолей. Выявленные новообразования были сгруппированы по следующим трем местоположениям: молочная железа, эндокринные и репродуктивные органы, прочие локализации. Рассчитывали частоту и множественность опухолей: общую и для каждой из трех групп; отдельно рассчитывали частоту и множественность злокачественных опухолей, как общую, так и для каждой из трех групп.

7. Статистическая обработка результатов

Расчет всех статистических показателей производился по отношению к эффективному числу крыс, то есть дожившим до выявления первого случая опухоли в своей серии экспериментов. Результаты эксперимента подвергали статистической обработке на персональном компьютере с помощью программ GraphPad Prism 6, STATISTICA 10. Вычисляли среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего (m). Для статистического анализа показателей частоты использовали тест χ^2 , точный метод Фишера, множественности - t -критерий Стьюдента. Для поиска зависимостей между количественными данными вычислялся коэффициент корреляции Спирмена. Для сравнительной оценки антиканцерогенных эффектов препаратов частоту и множественность новообразований в группах облученного контроля принимали за

100% и для дальнейшего сравнения брали относительные показатели опытных групп, полученные с использованием следующей формулы:

$$A = 100 - (C \times 100) / D, \text{ где}$$

A (%) – показатель частоты либо множественности новообразований в опытной группе относительно облученного контроля соответствующей серии;

C (%) – частота либо множественность новообразований в опытной группе;

D (%) – частота либо множественность новообразований в соответствующей группе облученного контроля.

Выживаемость рассчитывалась с учетом окончания эксперимента на сроке 16 мес. методом Каплана-Майера. Различия в выживаемости между периодами были оценены методом log-rank. Подсчет средней продолжительности жизни производился только у части эффективных животных, павших или забитых в терминальном состоянии до срока окончания эксперимента. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. Влияние γ -облучения на выживаемость и канцерогенез самок крыс

Регистрация погибших в процессе эксперимента крыс показала, что часть животных гибла от интеркуррентных заболеваний до появления первой опухоли (211 сут), причем в облученных группах гибель была большей, чем в интактном контроле, как результат лучевой воздействия. Все эти животные были исключены, и дальнейший анализ проводился только с эффективными крысами, дожившими до срока появления первой опухоли в эксперименте. К этому сроку в первой серии, 1-й группе осталась 91 крыса, во 2-й – 103, в 3-й – 80, в 4-й – 87, в 5-й – 79 крыс и в 6-й – 80 крыс; во второй серии в 7-й группе – 40, в 8-й – 44 крысы.

Результаты влияния облучения на выживаемость крыс представлены на рисунке 2.

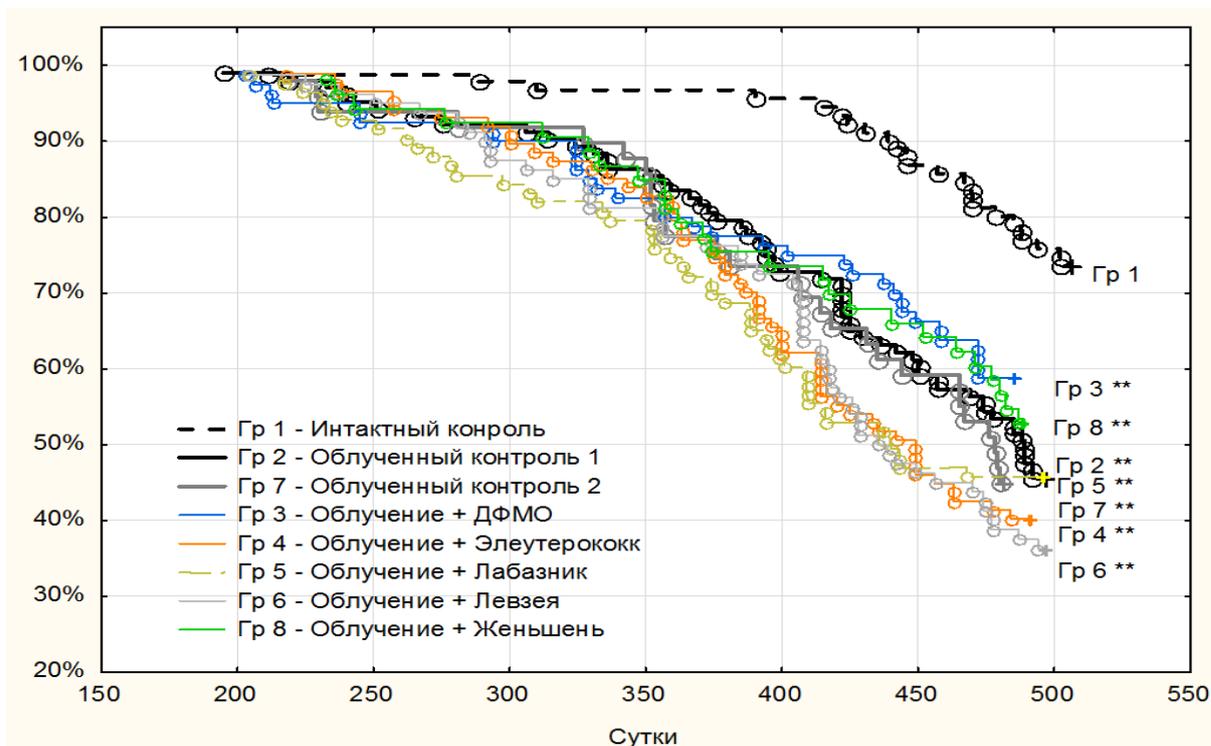


Рисунок 2. Влияние облучения на выживаемость крыс.

По оси абсцисс – время (сут), по оси ординат – % выживших животных в соответствующий момент времени. ** – $p < 0,05$ по сравнению с интактным контролем (log-rank тест)

Средняя продолжительность жизни животных, погибших до конца эксперимента, во всех группах, где применялось облучение, была значимо ниже, чем в интактном контроле. Анализ выживаемости показал, что во всех группах, где применялось облучение, наблюдалось ускорение гибели животных, начиная с 211 сут. и до конца опыта, по сравнению с интактным контролем. По характеру кривых гибели между группами облученных крыс значимых различий отмечено не было.

Показатели спонтанного канцерогенеза у самок крыс из 1-й группы интактного контроля представлены в таблице 1. Новообразования были диагностированы у 20 из 91 (21.9%) крыс, большинство опухолей молочной железы, эндокринных и репродуктивных органов были доброкачественными, тогда как среди опухолей прочих локализаций преобладали злокачественные.

Несмотря на разное время начала экспериментов в первой и второй серии, показатели развития новообразований у крыс из групп облученного контроля были близки (таблица 1). Во 2-й и 7-й группах новообразования были диагностированы соответственно у 79,6 и 70% крыс, причем более чем у половины из них (43,7 и 45% по отношению ко всем эффективным животным) опухоли были злокачественными. Среди новообразований преобладали опухоли молочной железы, которые развивались у 57,3 и 52,5% крыс из 2-й и 7-й групп, соответственно, на втором месте по частоте были опухоли эндокринных и репродуктивных органов (27,2 и 30%, соответственно), на третьем – опухоли прочих локализаций (21,2 и 25%, соответственно). Причем в группах облученного контроля, по сравнению с интактным контролем, существенно повышалась частота злокачественных опухолей, которые развивались у 43,7, 45 и 7,7% крыс из 2-й, 7-й и 1-й групп, соответственно.

γ -Облучение, в основном, значительно повышало частоту и множественность злокачественных опухолей молочной железы, которые вообще не были зарегистрированы в 1-й группе у интактных крыс, тогда как частота злокачественных опухолей молочной железы во 2-й и 7-й группах составила соответственно 19,4 и 32,5%.

Облучение значительно повышало также частоту и множественность новообразований эндокринных и репродуктивных органов и прочих локализаций, однако удельный вес злокачественных и доброкачественных опухолей для этих органов был примерно одинаковым в сравниваемых контрольных группах; как в 1-й группе, так и во 2-й и 7-й группах злокачественные новообразования преобладали среди прочих локализаций (почки, ЦНС, кроветворной системы и др.), а опухоли эндокринных и репродуктивных органов были преимущественно доброкачественными (яичники, матка, гипофиз др.).

В целом, в группах облученного контроля первой и второй серий (2-я и 7-я группы), по сравнению с интактным контролем (1-я группа), были значимо повышены частота всех опухолей соответственно в 3,6 и 3,2 раза, частота злокачественных опухолей – в 5,7 и 5,8 раза, множественность всех опухолей – в 6,7 и 8,0 раз, множественность злокачественных опухолей – в 6,3 и 7,3 раз. Частота опухолей молочной железы во 2-й и 7-й группах, по сравнению с 1-й группой, повышалась соответственно в 13,0 и 11,9 раз, а их множественность – в 20,5 и 22,5 раз.

Следовательно, однократное тотальное облучение крыс-самок в дозе 4 Гр привело к значительному повышению общей частоты и множественности опухолей, в том числе злокачественных новообразований, а также частоты и множественности опухолей всех отдельных групп локализаций. Максимальное повышение всех показателей канцерогенеза зарегистрировано в отношении опухолей молочной железы.

Таблица 1. – Показатели спонтанного и радиационно–индуцированного канцерогенеза у крыс

Параметры канцерогенеза	Группа		
	Гр.1 Интактный контроль	Гр. 2. Облученный контроль 1	Гр. 7 Облученный контроль 2
Эффективное число крыс	91	103	40
Опухоли всех локализаций			
Частота	20 (21,9%)	82 (79,6%) ^a	28 (70%) ^a
из них злокачественные	7 (7,7%)	45 (43,7%) ^a	18 (45%) ^a
Множественность	20 (0,22±0,02)	152 (1,48±0,08) ^a	70 (1,75 ± 0,27) ^a
из них злокачественные	7 (0,08±0,03)	52 (0,50 ± 0,06) ^a	23 (0,58 ± 0,12) ^a
Опухоли молочной железы			
Частота	4 (4,4%)	59 (57,3%) ^a	21 (52,5%) ^a
из них злокачественные	0	20 (19,4%) ^a	13 (32,5%) ^a
Множественность	4 (0,04±0,02)	84 (0,82 ± 0,06) ^a	36 (0,90 ± 0,16) ^a
из них злокачественные	0	21 (0,20 ± 0,04) ^a	15 (0,38 ± 0,09) ^a
Опухоли эндокринных и репродуктивных органов			
Частота	7 (7,7%)	28 (27,2%) ^a	12 (30%)
из них злокачественные	1 (1,1%)	6 (5,8%)	2 (5%)
Множественность	7 (0,08±0,02)	34 (0,33 ± 0,04) ^a	20 (0,50 ± 0,14)
из них злокачественные	1 (0,01±0,01)	6 (0,06 ± 0,02)	2 (0,05 ± 0,03)
Опухоли прочих локализаций			
Частота	9 (9,9%)	30 (29,1%) ^a	10 (25%)
из них злокачественные	6 (6,6%)	24 (23,3%) ^a	5 (12,5%)
Множественность	9 (0,10±0,02)	34 (0,33 ± 0,04) ^a	14 (0,35 ± 0,10) ^a
из них злокачественные	6 (0,07±0,03)	25 (0,24 ± 0,04) ^a	6 (0,15 ± 0,06)

Примечание: частота – абсолютное число крыс с опухолями (по отношению к эффективному числу крыс, %); множественность – абсолютное количество опухолей (средняя величина по отношению к эффективному числу крыс, $M \pm m$) в соответствующей группе. Разница статистически значима ($p < 0,05$): ^a с группой интактного контроля

Ионизирующее облучение значительно стимулирует развитие злокачественных и доброкачественных опухолей, характерных по гистологическому типу для спонтанного опухолевого фона самок крыс Вистар, а также вызывает ряд новых злокачественных и доброкачественных новообразований молочной железы, эндокринных и репродуктивных органов и прочих локализаций, не характерных по гистологическому типу для спонтанного канцерогенеза самок крыс Вистар.

2. Влияние химиопротективных препаратов на радиационный канцерогенез у самок крыс

Все протестированные препараты не оказывали влияния на динамику выживаемости облученных крыс по сравнению с облученным контролем.

2.1. Результаты изучения влияния ДФМО на радиационный канцерогенез у самок крыс представлены в таблице 2.

В 3–й группе (облучение + ДФМО) опухоли возникли у 47 (58,7%) из 80 крыс. По сравнению с интактным контролем, частота и множественность опухолей как общая, так и отдельно для молочной железы, эндокринных и репродуктивных органов, были выше, чем в интактном контроле. Однако, по сравнению со 2–й группой (облученный контроль), в 3–й группе общая частота и множественность опухолей, в

том числе злокачественных, были ниже на 20,9% и в 1,4 раза, на 26,2% и в 2,6 раза, соответственно. В 3–й группе также чаще всего возникали опухоли молочной железы – у 32 (40%) животных, однако по сравнению со 2–й группой частота и множественность новообразований данной локализации, в том числе злокачественных, были ниже на 17,3% и в 1,3 раза, на 14,4% и в 4,0 раза, соответственно. В 3–й группе довольно частыми были опухоли эндокринных и репродуктивных органов, которые были обнаружены у практически у трети (31,2%) животных, причем частота и множественность всех опухолей данной группы и отдельно злокачественных новообразований не отличались значимо от 2–й группы. Показатели развития опухолей прочих локализаций в 3–й группе были практически такими же, как в интактном контроле, причем по сравнению со 2–й группой, частота и множественность данных новообразований, в том числе злокачественных, были значимо ниже на 19,1% и в 3,0 раза, на 14,6% и в 2,4 раза, соответственно (таблица 2).

Таблица 2. – Влияние ДФМО на радиационный канцерогенез у крыс

Параметры канцерогенеза	Группа		
	Гр.1 Интактный контроль	Гр.2. Облученный контроль 1	Гр.3. Облучение + ДФМО
Эффективное число крыс	91	103	80
Опухоли всех локализаций			
Частота	20 (21,9%)	82 (79,6%) ^a	47 (58,7%) ^{a,б}
из них злокачественные	7 (7,7%)	45 (43,7%) ^a	14 (17,5%) ^б
Множественность	20 (0,22±0,02)	152 (1,48±0,08) ^a	84 (1,05±0,07) ^{a,б}
из них злокачественные	7 (0,08±0,03)	52 (0,50 ± 0,06) ^a	15 (0,19±0,05) ^{a,б}
Опухоли молочной железы			
Частота	4 (4,4%)	59 (57,3%) ^a	32 (40%) ^{a,б}
из них злокачественные	0	20 (19,4%) ^a	4 (5,0%) ^{a,б}
Множественность	4 (0,04±0,02)	84 (0,82 ± 0,06) ^a	50 (0,62±0,07) ^{a,б}
из них злокачественные	0	21 (0,20 ± 0,04) ^a	4 (0,05±0,02) ^{a,б}
Опухоли эндокринных и репродуктивных органов			
Частота	7 (7,7%)	28 (27,2%) ^a	25 (31,2%) ^a
из них злокачественные	1 (1,1%)	6 (5,8%)	3 (3,7%)
Множественность	7 (0,08±0,02)	34 (0,33 ± 0,04) ^a	25 (0,31±0,02) ^a
из них злокачественные	1 (0,01±0,01)	6 (0,06 ± 0,02)	3 (0,04±0,02)
Опухоли прочих локализаций			
Частота	9 (9,9%)	30 (29,1%) ^a	8 (10%) ^б
из них злокачественные	6 (6,6%)	24 (23,3%) ^a	7 (8,7%) ^б
Множественность	9 (0,10±0,02)	34 (0,33 ± 0,04) ^a	9 (0,11±0,05) ^б
из них злокачественные	6 (0,07±0,03)	25 (0,24 ± 0,04) ^a	8 (0,10±0,04) ^б

Примечание. Частота – абсолютное число крыс с опухолями (% по отношению к эффективному числу крыс); множественность – абсолютное количество опухолей (средняя величина по отношению к эффективному числу крыс, $M \pm m$) в соответствующей группе. Разница статистически значима ($p < 0,05$): ^a с группой интактного контроля, ^б с группой облученного контроля

2.2. Результаты изучения влияния элеутерококка на радиационный канцерогенез у самок крыс представлены в таблице 3.

Как можно видеть из приведенных данных в 4-й группе (облучение + элеутерококк) опухоли обнаружены у 54 (62,1%) из 87 животных. По сравнению с интактным контролем, частота и множественность опухолей как общая, так и отдельно для молочной железы, эндокринных и репродуктивных органов, были выше. Однако в 4-й группе, по сравнению со 2-й группой (облученный контроль), общая частота и множественность опухолей были значимо ниже на 22 и 26,4%, соответственно; при этом общая частота злокачественных опухолей была значимо меньше на 36,8%, а их множественность снижалась незначимо. В 4-й группе, как и в других, где крысы подвергались облучению, чаще всего возникали опухоли молочной железы – в 47,1% случаев.

Таблица 3. – Влияние элеутерококка на радиационный канцерогенез у крыс

Параметры канцерогенеза	Группа		
	Гр.1 Интактный контроль	Гр.2. Облученный контроль 1	Гр.4. Облучение + элеутерококк
Эффективное число крыс	91	103	87
Опухоли всех локализаций			
Частота	20 (21,9%)	82 (79,6%) ^a	54 (62,1%) ^{ab}
из них злокачественные	7 (7,7%)	45 (43,7%) ^a	24 (27,6%) ^{ab}
Множественность	20 (0,22±0,02)	152 (1,48±0,08) ^a	95 (1,09±0,07) ^{ab}
из них злокачественные	7 (0,08±0,03)	52 (0,50 ± 0,06) ^a	32 (0,37 ± 0,08) ^a
Опухоли молочной железы			
Частота	4 (4,4%)	59 (57,3%) ^a	41 (47,1%) ^a
из них злокачественные	0	20 (19,4%) ^a	14 (16,1%) ^a
Множественность	4 (0,04±0,02)	84 (0,82 ± 0,06) ^a	60 (0,69 ± 0,07) ^a
из них злокачественные	0	21 (0,20 ± 0,04) ^a	20 (0,23 ± 0,06) ^a
Опухоли эндокринных и репродуктивных органов			
Частота	7 (7,7%)	28 (27,2%) ^a	20 (23%) ^a
из них злокачественные	1 (1,1%)	6 (5,8%)	2 (2,3%)
Множественность	7 (0,08±0,02)	34 (0,33 ± 0,04) ^a	23 (0,26 ± 0,04) ^a
из них злокачественные	1 (0,01±0,01)	6 (0,06 ± 0,02)	2 (0,02 ± 0,02)
Опухоли прочих локализаций			
Частота	9 (9,9%)	30 (29,1%) ^a	10 (11,5%) ^b
из них злокачественные	6 (6,6%)	24 (23,3%) ^a	9 (10,3%) ^b
Множественность	9 (0,10±0,02)	34 (0,33 ± 0,04) ^a	12 (0,14 ± 0,04) ^b
из них злокачественные	6 (0,07±0,03)	25 (0,24 ± 0,04) ^a	10 (0,11 ± 0,04) ^b

Примечание. Частота – абсолютное число крыс с опухолями (% по отношению к эффективному числу крыс); множественность – абсолютное количество опухолей (средняя величина по отношению к эффективному числу крыс, $M \pm m$) в соответствующей группе. Разница статистически значима ($p < 0,05$): ^a с группой интактного контроля, ^b с группой облученного контроля

Все показатели для опухолей прочих локализаций у крыс 4-й группы были существенно и статистически значимо ниже, чем во 2-й группе: суммарная частота опухолей и частота злокачественных новообразований – соответственно на 60,5 и 57,6%; множественность всех опухолей и множественность отдельно злокачественных новообразований – соответственно на 55,8 и 54,2%. Показатели развития опухолей прочих локализаций в группе с применением элеутерококка были близки к группе интактного контроля (таблица 3).

Таким образом, элеутерококк предупреждает радиационный канцерогенез, снижая общую частоту и множественность как злокачественных, так и доброкачественных опухолей. В отношении отдельных групп новообразований элеутерококк значимо уменьшает частоту и множественность злокачественных и доброкачественных опухолей прочих локализаций.

2.3. Результаты оценки влияния введения препарата лабазника на радиационный канцерогенез у самок крыс представлены в таблице 4.

Таблица 4. – Влияние введения препарата лабазника на радиационный канцерогенез у крыс

Параметры канцерогенеза	Группа		
	Гр.1 Интактный контроль	Гр. 2. Облученный контроль 1	Гр. 5. Облучение + лабазник
Эффективное число крыс	91	103	79
Опухоли всех локализаций			
Частота	20 (21,9%)	82 (79,6%) ^a	57 (72,2%) ^a
из них злокачественные	7 (7,7%)	45 (43,7%) ^a	23 (29,1%) ^{ab}
Множественность	20 (0,22±0,02)	152 (1,48±0,08) ^a	92 (1,16±0,09) ^{ab}
из них злокачественные	7 (0,08±0,03)	52 (0,50 ± 0,06) ^a	28 (0,35±0,07) ^a
Опухоли молочной железы			
Частота	4 (4,4%)	59 (57,3%) ^a	31 (39,2%) ^{ab}
из них злокачественные	0	20 (19,4%) ^a	7 (8,9%) ^{ab}
Множественность	4 (0,04±0,02)	84 (0,82 ± 0,06) ^a	40 ^g (0,51±0,05) ^{ab}
из них злокачественные	0	21 (0,20 ± 0,04) ^a	7 (0,09±0,03) ^{ab}
Опухоли эндокринных и репродуктивных органов			
Частота	7 (7,7%)	28 (27,2%) ^a	22 (27,8%) ^a
из них злокачественные	1 (1,1%)	6 (5,8%)	2 (2,5%)
Множественность	7 (0,08±0,02)	34 (0,33 ± 0,04) ^a	23 ^h (0,29±0,05) ^a
из них злокачественные	1 (0,01±0,01)	6 (0,06 ± 0,02)	2 (0,03±0,02)
Опухоли прочих локализаций			
Частота	9 (9,9%)	30 (29,1%) ^a	26 (32,9%) ^a
из них злокачественные	6 (6,6%)	24 (23,3%) ^a	17 (21,5%) ^a
Множественность	9 (0,10±0,02)	34 (0,33 ± 0,04) ^a	29 ⁱ (0,37±0,06) ^a
из них злокачественные	6 (0,07±0,03)	25 (0,24 ± 0,04) ^a	19 (0,24±0,05) ^a

Примечания те же, что и к таблице 3.

К концу эксперимента у животных 5-й группы общая частота опухолей составила 72,2%, а множественность 1,16 (таблица 4). При сравнении с аналогичными показателями у крыс 2-й группы (облученный контроль) оказалось, что по частоте они были близкими, тогда как по общей множественности значимо снижены – в 1,3 раза. С другой стороны, множественность злокачественных опухолей была ниже в подопытной группе в сравнении с контрольно облученными животными.

При сопоставлении спектра новообразований у крыс в 5-й и 2-й группах не обнаруживаются заметные различия. В 5-й группе у животных чаще всего возникали опухоли молочной железы – в 39,2% с множественностью 0,51, которые в сравнении с аналогичными показателями крыс 2-й группы статистически значимо были ниже в 1,5 и 1,6 раза, соответственно.

У крыс в сравниваемых группах показатели развития опухолей всех других локализаций (эндокринных и репродуктивных органов, и прочих) были на одном уровне по частоте и множественности (суммарно, и только злокачественных типов).

Таким образом, в результате пролонгированного применения препарата лабазника можно значимо затормозить канцерогенез у самок крыс, вызванный ионизирующей радиацией. Наиболее выражено ингибирующая активность лабазник проявилась в отношении канцерогенеза молочной железы, которые были наиболее частыми для использованной модели.

2.4. Результаты введения препарата левзеи на радиационный канцерогенез у самок крыс представлены в таблице 5.

В группе облучение+левзея (группа 6) новообразования были обнаружены у 59 (73,8%) из 80 животных. По сравнению с интактным контролем, частота и множественность опухолей как общая, так и отдельно для молочной железы, эндокринных и репродуктивных органов, были выше, чем в интактном контроле. Общая частота и множественность опухолей не отличались значимо от 2-й группы (облученный контроль). Частота и множественность злокачественных опухолей также не отличались значимо от 2-й группы. В 6-й группе, также как и во 2-й группе, чаще всего возникали опухоли молочной железы – в 55% случаев.

Для отдельных новообразований, по сравнению с облученным контролем 2-й группы, в 6-й группе, большинство показателей частоты и множественности опухолей молочной железы, эндокринных и репродуктивных органов и прочих локализаций несколько снижались, но ни в одном случае между группами не было найдено статистически значимой разницы (таблица 5).

В 6-ей группе было выявлено 22 злокачественные опухоли молочной железы: 20 аденокарцином, полиморфная фибросаркома, злокачественная фиброзная гистиоцитома; остальные были доброкачественными – 42 фиброаденомы. Среди опухолей эндокринных и репродуктивных органов было обнаружено 3 злокачественных. Было также выявлено 16 злокачественных опухолей прочих локализаций.

Таким образом, введение левзеи не влияло значимо на радиационный канцерогенез у крыс.

Таблица 5. – Влияние введения препарата левзеи на радиационный канцерогенез у крыс

Параметры канцерогенеза	Группа		
	Гр.1 нтактный контроль	Гр.2. Облученный контроль 1	Гр.6. Облучение + левзея
Эффективное число крыс	91	103	80
Опухоли всех локализаций			
Частота	20 (21,9%)	82 (79,6%) ^a	59 (73,8%)
из них злокачественные	7 (7,7%)	45 (43,7%) ^a	33 (41,2%)
Множественность	20 (0,22±0,02)	152 (1,48±0,08) ^a	104 (1,30± 0,12)
из них злокачественные	7 (0,08±0,03)	52 (0,50 ± 0,06) ^a	41 (0,51 ± 0,08)
Опухоли молочной железы			
Частота	4 (4,4%)	59 (57,3%) ^a	44 (55%)
из них злокачественные	0	20 (19,4%) ^a	17 (21,2%)
Множественность	4 (0,04±0,02)	84 (0,82 ± 0,06) ^a	64 (0,80 ± 0,10)
из них злокачественные	0	21 (0,20 ± 0,04) ^a	22 (0,28 ± 0,07)
Опухоли эндокринных и репродуктивных органов			
Частота	7 (7,7%)	28 (27,2%) ^a	18 (22,5%)
из них злокачественные	1 (1,1%)	6 (5,8%)	3 (3,7%)
Множественность	7 (0,08±0,02)	34 (0,33 ± 0,04) ^a	19 (0,24 ± 0,05)
из них злокачественные	1 (0,01±0,01)	6 (0,06 ± 0,02)	3 (0,04 ± 0,02)
Опухоли прочих локализаций			
Частота	9 (9,9%)	30 (29,1%) ^a	17 (21,2%)
из них злокачественные	6 (6,6%)	24 (23,3%) ^a	13 (16,2%)
Множественность	9 (0,10±0,02)	34 (0,33 ± 0,04) ^a	21 (0,26 ± 0,06)
из них злокачественные	6 (0,07±0,03)	25 (0,24 ± 0,04) ^a	16 (0,20 ± 0,06)

Примечания те же, что и к таблице 3.

2.5. Влияние введения препарата женьшеня на радиационный канцерогенез у самок крыс представлены в таблице 6.

По сравнению с группой облученного контроля, в группе облученных животных, которым давали женьшень, были статистически значимо снижены общая частота и множественность опухолей соответственно на 35 и 58,3%, частота и множественность всех злокачественных опухолей – на 59,6 и 62,5%.

У животных 8–й группы также наиболее частой локализацией были опухоли молочной железы, но, по сравнению с 7–й группой (облученный контроль), их общая частота и множественность были ниже соответственно на 43,8 и 50%, а также отдельно частота и множественность злокачественных новообразований данной локализации – меньше на 72% и 71,1%.

По сравнению с 7–й группой, в 8–й группе частота и множественность опухолей эндокринных и репродуктивных органов были значимо ниже соответственно на 69,7 и 82%, причем злокачественных новообразований этих органов не было выявлено вообще. В сравнении с 7–й группой, у крыс из 8–й группы множественность опухолей прочих локализаций была меньше на 48,6%, а частота и множественность злокачественных новообразований прочих локализаций значимо не отличались от показателей в группе облученного контроля (таблица 6).

Таким образом, женьшень эффективно предупреждает радиационный канцерогенез. Наиболее значимо антиканцерогенное действие женьшеня проявляется в отношении опухолей молочной железы, эндокринных и репродуктивных органов.

Таблица 6. – Влияние введения препарата женьшеня на радиационный канцерогенез у крыс

Параметры канцерогенеза	Группа		
	Гр.1 Интактный контроль	Гр.7. Облученный контроль 2	Гр.8. Облучение + женьшень
Эффективное число крыс	91	40	44
Опухоли всех локализаций			
Частота	20 (21,9%)	28 (70%) ^a	20 (45,5%) ^{ab}
из них злокачественные	7 (7,7%)	18 (45%) ^a	8 (18,2%) ^o
Множественность	20 (0,22±0,02)	70 (1,75 ± 0,27) ^a	32 (0,73 ± 0,15) ^{ao}
из них злокачественные	7 (0,08±0,03)	23 (0,58 ± 0,12) ^a	9 (0,20 ± 0,07) ^o
Опухоли молочной железы			
Частота	4 (4,4%)	21 (52,5%) ^a	13 (29,5%) ^{ab}
из них злокачественные	0	13 (32,5%) ^a	4 (9,1%) ^o
Множественность	4 (0,04±0,02)	36 (0,90 ± 0,16) ^a	20 (0,45 ± 0,13) ^{ao}
из них злокачественные	0	15 (0,38 ± 0,09) ^a	5 (0,11 ± 0,06) ^o
Опухоли эндокринных и репродуктивных органов			
Частота	7 (7,7%)	12 (30%)	4 (9,1%) ^o
из них злокачественные	1 (1,1%)	2 (5%)	0
Множественность	7 (0,08±0,02)	20 (0,50 ± 0,14)	4 (0,09 ± 0,04) ^o
из них злокачественные	1 (0,01±0,01)	2 (0,05 ± 0,03)	0
Опухоли прочих локализаций			
Частота	9 (9,9%)	10 (25%)	7 (15,9%)
из них злокачественные	6 (6,6%)	5 (12,5%)	4 (9,1%)
Множественность	9 (0,10±0,02)	14 (0,35 ± 0,10) ^a	8 (0,18 ± 0,07)
из них злокачественные	6 (0,07±0,03)	6 (0,15 ± 0,06)	4 (0,09 ± 0,04)

Примечания те же, что и к таблице 3

3. Сравнительный анализ антиканцерогенной эффективности фитоадаптогенных лекарственных препаратов

Сравнительные антиканцерогенные эффекты ДФМО и фитоадаптогенных лекарственных препаратов на показатели общей частоты и множественности опухолей, индуцированных у самок крыс ионизирующим излучением, представлены на рисунке 3.

Из 4-х исследованных препаратов значительно снижали показатели радиационного канцерогенеза только женьшень, элеутерококк и ДФМО. Левзея не показала торможения радиационного канцерогенеза. Наибольшую эффективность в снижении общих показателей канцерогенеза показал женьшень, который уменьшал общую частоту и множественность опухолей соответственно на 13 и 31,9% больше, чем элеутерококк, и на 27,7% и 46,1% больше, чем левзея. Женьшень снижал также общую частоту и множественность злокачественных новообразований соответственно на 22,7 и 39,5% более эффективно, чем элеутерококк, и на 53,8 и 67,5% более эффективно, чем левзея. Элеутерококк по сравнению с левзеей более эффективно снижал частоту и множественность всех опухолей и отдельно всех злокачественных новообразований соответственно на 14,7 и 14,2%, 31,1 и 28%. Женьшень также наиболее эффективно подавлял развитие опухолей молочной железы.

По сравнению с элеутерококком и левзеей, женьшень более эффективно снижал частоту и множественность всех опухолей молочной железы соответственно на 26 и 34,1%, 39,8 и 47,6%, злокачественных опухолей молочной железы – на 55 и 86,1%, 81,3% и 111,1%. Элеутерококк по сравнению с левзеей более эффективно снижал частоту и множественность опухолей молочной железы и отдельно злокачественных новообразований данной локализации соответственно на 13,8 и 13,4%, 26,3 и 25%.

В отношении новообразований эндокринных и репродуктивных органов наибольшую антиканцерогенную активность также проявил женьшень, который уменьшал частоту и множественность данных опухолей соответственно на 54,2 и 60,8% больше, чем элеутерококк, и на 52,4 и 54,7% больше, чем левзея. Интересно отметить, что в отличие от других препаратов, женьшень полностью подавлял развитие злокачественных новообразований эндокринных и репродуктивных органов (на 100%).

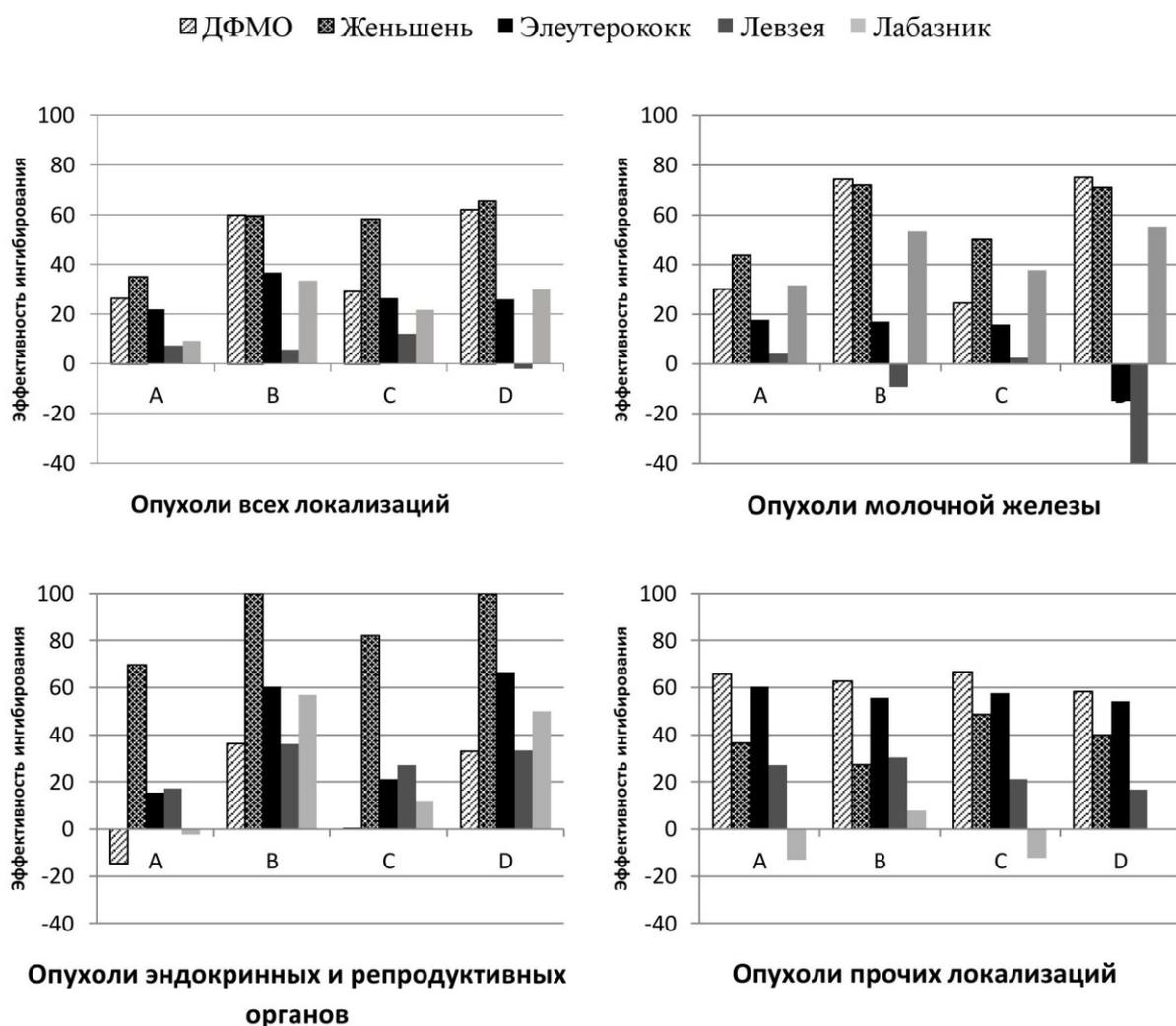


Рисунок 3. Сравнительная эффективность ингибирования радиационного канцерогенеза у самок крыс при помощи ДФМО и фитопрепаратов; (А – частота всех опухолей, В – частота злокачественных опухолей, С – множественность всех опухолей; D – множественность злокачественных опухолей). Положительные значения указывают степень подавления канцерогенеза (в %, 100% соответствуют полному подавлению) по сравнению с уровнем в соответствующей группе облученного контроля (принят за 0), отрицательные – степень стимулирования.

Элеутерококк и левзея практически одинаково снижали частоту и множественность всех опухолей эндокринных и репродуктивных органов, но элеутерококк уменьшал частоту и множественность отдельно злокачественных новообразований данных органов на 24,1 и 33,3% более эффективно, чем левзея.

Развитие опухолей прочих локализаций наиболее эффективно ингибировал элеутерококк. По сравнению с женьшенем и левзеей, элеутерококк более эффективно снижал частоту и множественность всех опухолей прочих локализаций соответственно на 24,1 и 9%, 33,3 и 36,4%, злокачественных опухолей молочной железы – на 28,6 и 14,2%, 25,3% и 37,5%. женьшень снижал частоту и множественность всех опухолей прочих локализаций соответственно на 9,3 и 27,4% более эффективно, чем левзея, а множественность злокачественных новообразований прочих локализаций – на 23,3% более эффективно, чем левзея.

Лабазник показал сравнимую с женьшенем активность в отношении новообразований молочной железы, а в остальных случаях была близка по эффективности к элеутерококку, кроме группы прочих локализаций.

4. Влияние ДФМО и отдельных фитопрепаратов на изменения индекса ДНК клеток крови облученных крыс

Определение токсикогеномного показателя в лейкоцитах крови было проведено в отдельной серии опытов у контрольно облученных крыс и животных, которым наряду с γ -облучением вводили ДФМО, элеутерококк или левзею. Измерение концентрации лейкоцитов крови в группах крыс через 30 суток после γ -облучения представлены в таблице 7. Как можно видеть из приведенных данных, восстановление популяции

Таблица 7 – Содержание лейкоцитов крови ($\times 10^9$ кл/л) в группах крыс через 30 суток после γ -облучения в дозе 4 Гр

Группа животных (n – число крыс)	Интактный контроль (n = 23)	Облученный контроль (n = 22)	Облучение + ДФМО (n = 25)	Облучение + элеутерококк (n = 20)	Облучение + левзея (n = 20)
Концентрация лейкоцитов (M \pm m)	14,85 \pm 1,08	12,73 \pm 1,00	12,71 \pm 0,77	9,77* \pm 0,47	10,22* \pm 0,60

Примечание: * - различия значимы по сравнению с облученным контролем ($p < 0.05$).

лейкоцитов у контрольно облученных животных к этому сроку происходило до уровня, не отличавшегося от параметра, измеренного в группе интактных крыс, что соответствует кроветворному синдрому после сублетального лучевого воздействия. Введение облученным животным ДФМО не оказывало влияния на степень восстановления концентрации лейкоцитов после радиационного воздействия, тогда как при введении элеутерококка или левзеи наблюдалось снижение величины измеренного гематоцитологического показателя по сравнению с контролем.

В экспериментах было выявлено возрастание индекса ДНК (ИД) крови в группе облученных крыс по сравнению с показателем в группе интактного контроля (Рисунок 4). Значимое снижение показателя генотоксичности в сравнении с контрольно облученными животными в результате введения исследованных препаратов

наблюдалось только в группе крыс, получавших экстракт элеутерококка. В группах животных с ДФМО и экстрактом левзеи эти снижения были незначимыми.

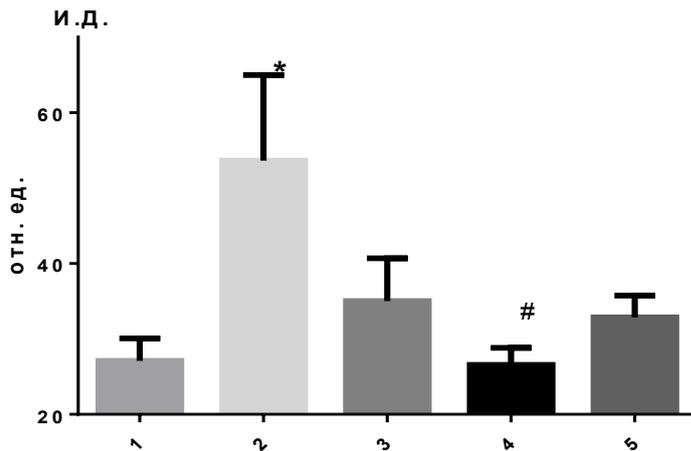


Рисунок 4. Влияние ДФМО и фитопрепаратов на индекс ДНК клеток крови облученных крыс.

По оси абсцисс – номера групп животных: 1 – интактный контроль, 2 – облучение (4 Гр), 3 – облучение + ДФМО, 4 – облучение + элеутерококк, 5 – облучение + левзея; по оси ординат – величина индекса ДНК (ИД) в отн.ед.

Разница статистически значима ($p < 0,05$) по сравнению: * с группой интактного контроля, # с группой облученного контроля

Корреляционный анализ изменений выживаемости в группе 1 (интактного контроля) и опухоленосителей 2-й (облученного контроля) и подопытных групп 3 – 5 (с введением химиопротективных препаратов) в связи с изменениями токсикогеномного показателя в группах этих же крыс не выявил значимых взаимосвязей между этими параметрами. Однако сопоставление изменений токсикогеномного показателя с результатами гистологических исследований опухолей отдельных локализаций выявило значимую положительную корреляцию вариаций величины ИД во всех обследованных группах крыс с частотой и множественностью злокачественных новообразований эндокринных и репродуктивных органов (ЗНЭРО):

$$\text{Частота}_{\text{ЗНЭРО}} = -2,22 + 0,16 \times \text{ИД (отн.ед)} \quad (R = 0,908; p < 0,05)$$

Это уравнение регрессии может быть свидетельством того, что эндокринная система является одной из первичных мишеней генотоксического действия ионизирующей радиации в организме, а также эффективным местом профилактического действия элеутерококка.

ВЫВОДЫ

1. Тотальное γ -облучение самок крыс Вистар в дозе 4 Гр приводит к развитию новообразований у 70–80% животных; по сравнению с интактными животными статистически значимо увеличивается частота всех новообразований в 3,2–3,6 раза ($p < 0,05$) и их множественность в 6,7–7,0 раз ($p < 0,05$), в том числе всех злокачественных опухолей – в 5,7–5,8 раз ($p < 0,05$) и в 6,2–7,2 раза ($p < 0,05$), соответственно; возрастает частота и множественность новообразований трех групп: молочной железы, органов эндокринной и репродуктивной системы (гипофиз, надпочечники, матка, яичники), других локализаций (печень, почки, легкие, кишечник, кожа, забрюшинное пространство, нервная система, кровеносная система); в наибольшей степени повышается частота (в 11,9–12,0 раз; $p < 0,05$) и множественность (в 20,5–22,5 раз; $p < 0,05$) опухолей молочной железы. Модель пригодна для поиска средств химиопрофилактики радиационного канцерогенеза.

2. α -Дифторметилорнитин выраженно тормозит радиационный канцерогенез: по сравнению с облученным контролем статистически значимо снижает частоту и множественность всех новообразований соответственно в 1,3 и 1,4 раза ($p < 0,05$), всех злокачественных опухолей – в 2,5 и 2,6 раз ($p < 0,05$); новообразований молочной железы – в 1,4 и 1,3 раза ($p < 0,05$), новообразований других локализаций – в 2,9 и 3,0 раза ($p < 0,05$).

3. Настойка корня женьшеня обыкновенного выраженно тормозит радиационный канцерогенез: по сравнению с облученным контролем статистически значимо снижает частоту и множественность всех новообразований соответственно в 1,5 и 2,4 раза ($p < 0,05$), всех злокачественных опухолей – в 2,5 и 2,9 раз ($p < 0,05$); новообразований молочной железы в 1,8 и 2,0 раза ($p < 0,05$), новообразований эндокринных и репродуктивных органов в 3,3 и 5,5 раз ($p < 0,05$).

4. Настойка корня элеутерококка колючего умеренно тормозит радиационный канцерогенез: по сравнению с облученным контролем статистически значимо снижает общую частоту и множественность новообразований в 1,3 раза ($p < 0,05$), частоту всех злокачественных опухолей – в 1,6 раза ($p < 0,05$); частоту и множественность новообразований других локализаций – в 2,5 и 2,4 раза ($p < 0,05$).

5. Отвар цветков лабазника вязолистного умеренно тормозит радиационный канцерогенез: по сравнению с облученным контролем статистически значимо снижает множественность всех новообразований в 1,3 раза ($p < 0,05$), частоту всех злокачественных опухолей – в 1,5 раза ($p < 0,05$); частоту и множественность новообразований молочной железы – в 1,5 и 1,6 раза ($p < 0,05$).

6. Настойка корневищ левзеи сафлоровидной не влияет значимо на радиационный канцерогенез.

7. α -Дифторметилорнитин и настойка корня женьшеня являются наиболее эффективными и универсальными ингибиторами радиационного канцерогенеза, причем их антиканцерогенные эффекты являются сопоставимыми. Настойка корня элеутерококка и отвар цветков лабазника по выраженности и универсальности ингибирующего действия на радиационный канцерогенез уступают α -дифторметилорнитину, элеутерококк тормозит преимущественно развитие опухолей других локализаций, лабазник – опухолей молочной железы.

8. Через 30 суток после облучения крыс по сравнению с интактным контролем значимо ($p < 0,05$) повышается индекс ДНК – содержание ДНК в расчете на число лейкоцитов крови. Препараты α -дифторметилорнитина, элеутерококка колючего и левзеи сафлоровидной снижают индекс ДНК до уровня не отличающегося значимо от

показателя в группе интактного контроля. Изменения индекса ДНК коррелируют ($R = 0,908$, $p < 0,05$) с вариациями показателей частоты и множественности впоследствии развившихся злокачественных новообразований в репродуктивных и эндокринных органах.

Практические рекомендации

1. Модель тотального γ -облучения самок крыс в дозе 4 Гр рекомендуется для поиска средств для химиопрофилактики радиационного канцерогенеза в экспериментальных исследованиях.

2. Выбранные по результатам эксперимента наиболее эффективные и безопасные растительные средства – корень женьшеня обыкновенного, корень элеутерококка колючего, цветки лабазника вязолистного – могут быть предложены специалистам в области профилактической медицины для клинического изучения с целью профилактики отдаленных онкологических последствий у групп населения, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения.

3. Тест определения индекса ДНК может рекомендоваться для ускоренного скрининга в эксперименте потенциальных химиопрофилактических препаратов, способных предупреждать развитие злокачественных новообразований в репродуктивных и эндокринных органах, индуцированных ионизирующей радиацией.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Беспалов В.Г., Александров В.А., Семенов А.Л., Кованько Е.Г., Иванов С.Д. Ингибирующий эффект биоженьшеня на радиационный канцерогенез у крыс // Вопросы онкологии. – 2012. – Т. 58, № 2. – С. 248–252.

2. Семенов А.Л., Беспалов В.Г., Александров В.А., Кованько Е.Г., Иванов С.Д. Сравнение антиканцерогенного действия препаратов из группы лекарственных фитоадаптогенов на модели радиационно–индуцированного канцерогенеза у самок крыс // Петровские чтения – 2012: Сборник тезисов 8–й Всероссийской конференции по фундаментальной онкологии. – Санкт-Петербург, 20 апреля 2012 г. – СПб.: ФГБУ "НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова" Минздравсоцразвития России. – С. 123–125.

3. Семенов А.Л., Беспалов В.Г., Александров В.А., Кованько Е.Г., Иванов С.Д. Торможение радиационного канцерогенеза у крыс препаратами из *Panax ginseng* (Araliaceae), *Eleutherococcus senticosus* (Araliaceae) и *Rhaponticum carthamoides* (Asteraceae) // Растительные ресурсы. – 2013. – Т. 49, № 2. – С. 247–261.

4. Bespalov V.G., Aleksandrov V.A., Semenov A.L., Kovan'ko E.G., Ivanov S.D. Comparative effects of difluoromethylornithine and Siberian ginseng root tincture on radiation induced carcinogenesis in rats and their lifespan // Advances in Gerontology. – 2013. – Vol. 3, No. 1. – P. 70–76.

5. Беспалов В.Г., Александров В.А., Семенов А.Л., Кованько Е.Г., Иванов С.Д. Химиопрофилактика отдаленных онкологических последствий на модели радиационного канцерогенеза // Сибирский онкологический журнал. – 2013. – № 5. – С. 27–33.

6. Семенов А.Л. Химиопрофилактика отдаленных онкологических последствий ионизирующего излучения // Сборник научных трудов Конференции молодых ученых.

– Санкт-Петербург, 27 марта 2013 г. – СПб.: ФГБУ "НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова", 2013. – С. 53–57.

7. Семенов А.Л., Беспалов В.Г., Александров В.А., Кованько Е.Г., Иванов С.Д. Лекарственная химиопрофилактика опухолей, индуцированных ионизирующей радиацией // Человек и лекарство: Тезисы докладов XX юбилейного Российского национального конгресса. – Москва, 15–19 апреля 2013 г. – М.: ЗАО РИЦ "Человек и лекарство", 2013. – С. 426.

8. Семенов А.Л., Беспалов В.Г., Александров В.А., Кованько Е.Г., Иванов С.Д. Лекарственная химиопрофилактика отдаленных онкологических последствий ионизирующего облучения в эксперименте // Онкология XXI века – от научных исследований в клиническую практику: Материалы VIII Всероссийского съезда онкологов. – Санкт-Петербург, 11–13 сентября 2013 г. – Вопр. онкол. – 2013. – Т. 59, Приложение к № 3. – СПб.: Ладога, 2013. – Т. I. – С. 122–123.

9. **Bespalov V.G., Semenov A.L., Aleksandrov V.A., Kovan'ko E.G., Ivanov S.D. Anticarcinogenic activity of alpha-difluoromethylornithine, ginseng, eleutherococcus, and leuzea on radiation-induced carcinogenesis in female rats // International Journal of Radiation Biology. – 2014. – Vol. 90, No. 12. – P. 1191–1200.**

10. Семенов А.Н., Беспалов В.Г., Александров В.А., Кованько Е.Г., Иванов С.Д. Лекарственная химиопрофилактика радиационного канцерогенеза // Тезисы VIII Съезда онкологов и радиологов СНГ и Евразии. – Казань, 16–18 сентября 2014 г. – Евразийский онкологический журнал. – 2014. – № 3. – С. 120.

11. Семенов А.Л., Беспалов В.Г., Александров В.А., Кованько Е.Г., Иванов С.Д. Антиканцерогенная активность альфа-дифторметилорнитина, женьшеня, элеутерококка и левзеи на модели радиационно-индуцированного канцерогенеза у самок крыс // Медико-биологические проблемы токсикологии и радиобиологии: Тезисы докладов Российской научной конференции с международным участием / Составитель А.Н. Гребенюк. – Санкт-Петербург, 4–6 июня 2015 г. – СПб.: Фолиант, 2015. – С. 118–119.

12. Семенов А.Л., Иванов С.Д., Беспалов В.Г., Кованько Е.Г., Александров В.А. Прогнозирование эффективности химиопрофилактики радиационного канцерогенеза путем оценки токсикогеномных реакций в лейкоцитах крыс // 1-й Российский онкологический научно-образовательный форум с международным участием "Белые Ночи – 2015": Сборник тезисов / Под общей ред. А.М. Беляева. – Санкт-Петербург, 8–10 июня 2015 г. – М.: МЕДИ Экспо, 2015. – С. 475–476.

13. **Ivanov S.D., Bespalov V.G., Semenov A.L., Kovan'ko E.G., Alexandrov V.A. Toxicogenomic effects in rat blood leukocytes and chemoprophylaxis of radiation-induced carcinogenesis // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2016. – Vol. 160, No. 5. – P. 705–708.**

14. Семенов А.Л., Беспалов В.Г., Иванов С.Д., Кованько Е.Г., Александров В.А. Ингибирование радиационного канцерогенеза у крыс с помощью отвара цветков лабазника вязолистного (*Filipendula ulmaria*) // II Петербургский онкологический форум "Белые Ночи – 2016": Сборник тезисов. – Санкт-Петербург, 22–24 июня 2016 г. – М., 2016. – С. 352–353.

15. **Bespalov V.G., Alexandrov V.A., Semenov A.L., Kovan'ko E.G., Ivanov S.D., Vysochina G.I., Kostikova V.A., Baranenko D.A. The inhibitory effect of meadowsweet (*Filipendula ulmaria*) on radiation-induced carcinogenesis in rats // International Journal of Radiation Biology. – 2017. – Vol. 93, No. 4. – P. 394–401.**

16. Семенов А.Л., Беспалов В.Г., Александров В.А., Кованько Е.Г., Иванов С.Д. Химиопрофилактика радиационного канцерогенеза с помощью растительных средств

// III Петербургский международный онкологический форум "Белые ночи 2017": Сборник научных работ. – Санкт-Петербург, 23–24 июня 2017 г. – СПб., 2017. – С. 168.

17. **Bespalov V.G., Baranenko D.A., Aleksandrov V.A., Semenov A.L., Kovan'ko E.G., & Ivanov S.D. Chemoprevention of Radiation-Induced Carcinogenesis Using Decoction of Meadowsweet (*Filipendula Ulmaria*) Flowers // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. – 2019. – Vol. 52. – No. 10. – P. 860-862.**

Список сокращений и условных обозначений

ИД – Индекс ДНК

ДФМО – α -Дифторметилорнитин

Элеутерококк – Элеутерококк колючий (*Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim.)

Лабазник – Лабазник вязолистный (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.)

Левзея – Левзея сафлоровидная (*Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin)

Женьшень – биоженьшень, биотехнологический лекарственный культуральный препарат женьшеня (*Panax ginseng* C. A. Mey)