На правах рукописи

РЫБАЛКИНА ОЛЬГА ЮРЬЕВНА

АНТОЦИАНСОДЕРЖАЩИЕ РАСТИТЕЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ В ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ И ЦИТОСТАТИЧЕСКОЙ АНЕМИИ

(экспериментальное исследование)

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология
3.1.6. Онкология, лучевая терапия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Томск – 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Научно-исследовательском институте фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, профессор,
член-корреспондент РАН **Жданов Вадим Вадимович**

доктор биологических наук,
старший научный сотрудник **Разина Татьяна Георгиевна**

Официальные оппоненты:

Дурнев Андрей Дмитриевич, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», Институт высшего и дополнительного профессионального образования, кафедра медицинской генетики, профессор кафедры

Сорокина Ирина Васильевна, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук, лаборатория фармакологических исследований, ведущий научный сотрудник

Покровский Вадим Сергеевич, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской федерации, Научно-исследовательский институт экспериментальной онкологии и канцерогенеза, лаборатория биохимических основ фармакологии, заведующий лабораторией

Ведущая организация:
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Барнаул

Защита состоится « » _____ 2026 г. в _____часов на заседании диссертационного совета 24.1.215.02, созданного на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», по адресу: 634028, г. Томск, пр. Ленина, 3, Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», адрес сайта http://www.tnimc.ru

Автореферат разослан «____»_____ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук Минакова Мария Юрьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Злокачественные новообразования являются одной из основных причин смертности в мире, в том числе, и в России. Смертность от рака, по прогнозам ВОЗ, будет продолжать расти, и к 2030 году превысит 11 млн случаев в год (Chhikara B.S. et al., 2022). Согласно эпидемиологическим данным, в 2022 году в Российской Федерации впервые выявлено 624 835 случаев злокачественных новообразований (Жуйкова Л.Д. и др., 2023; Shakhzadova A.O. et al., 2024).

Назначение цитостатических препаратов пациентам со злокачественными новообразованиями в большинстве случаев является единственно эффективным способом воздействия на распространенный опухолевый процесс (Lanza O. et al., 2022). В то же время основным недостатком химиотерапии является высокая токсичность препаратов, делающая невозможным увеличение дозы для полного уничтожения опухолевых клеток и уменьшения их инвазивной активности (Albano D. et al., 2021; Li Z. et al., 2022). Результатом действия всех цитостатических препаратов являются ингибирование клеточной пролиферации и гибель быстро делящихся клеток. Этот эффект в основном достигается путем воздействия на ДНК, конечным результатом чего является остановка клеточного цикла либо запуск программируемой клеточной гибели клеток – апоптоза (Белицкий Г.А. и др., 2020).

Анемия – наиболее распространенная гематологическая токсичность при химиотерапии. Так, согласно данным European Cancer Anaemia Survey, анемия занимает второе место среди гематологических осложнений цитостатической терапии (Lawday S. et al., 2025). Использование антибластомных препаратов для лечения солидных опухолей приводит к развитию анемии у 54% пациентов (Ларионова В.Б. и др., 2018). Кроме этого, анемический синдром является следствием развития опухолей, поэтому анемия при онкологических заболеваниях относится по Международной классификации болезней к болезням крови, кроветворных органов и отдельным нарушениям, вовлекающим иммунный механизм (раздел III), под кодом D63.0 – «Анемия при новообразованиях» (Кулибаба Т.Г. и др., 2018).

В настоящее время на фармацевтическом рынке существует ряд препаратов-корректоров, снижающих токсичность цитостатиков в отношении эритрона (эритропоэтин, витамины группы В, препараты железа, гормоны и др.) (Моисеев С.В., 2012; Ларионова В.Б. и др., 2018; Kontoghiorghes G.J., 2023). Однако такие средства сами обладают рядом недостатков: они могут вызывать повышение артериального давления, нарушения в системе гемостаза, приводить к дефициту железа в сыворотке крови и др. (Geissler C. et al., 2017; Brasky T.M. et al., 2020), что может свидетельствовать об их низкой безопасности.

Актуальной задачей онкофармакологии является поиск новых веществ с целью создания на их основе лекарственных препаратов, повышающих эффективность противоопухолевой терапии и/или снижающих её токсическое воздействие на эритроидный росток кроветворения.

Несмотря на достижения в области разработки и внедрения в клиническую практику синтетических средств, препараты из природных источников продолжают завоевывать свою нишу в лечении различных заболеваний благодаря широкому спектру фармакологических эффектов. С каждым годом на мировом фармацевтическом рынке возрастает количество препаратов из растений как на основе комплексов веществ, так и выделенных биологически активных соединений (Buda V. et al., 2020). Интересными в этом плане являются фенольные соединения, в частности, антоцианы. Согласно литературным данным, эти вещества могут снижать выраженность миелотоксических эффектов цитостатических препаратов (Maiuolo J. et al., 2022). Изредка встречаются данные о противоопухолевом и антиметастатическом действии антоцианов (Tikhonova M.A. et al., 2024), а также об их способности подавлять процессы свободнорадикального окисления и стимулировать иммунный ответ (Gezici S., Şekeroğlu N., 2019). Неоспоримым преимуществом природных веществ перед синтетическими в большинстве случаев является отсутствие токсического действия и высокая биодоступность. В качестве яркого примера растительных источников антоцианов можно привести плоды рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.) и аронии черноплодной (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott) (Banach M. et al., 2020; Sarv V. et al., 2020). Настоящее исследование посвящено изучению возможности повышения эффективности химиотерапии и коррекции анемии, индуцированной цитостатическими препаратами, с помощью антоциансодержащих комплексов из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa*.

Степень разработанности проблемы. В настоящее время для снижения выраженности анемического синдрома при использовании цитостатических препаратов в клинической практике используют небольшой арсенал средств (эритропоэтин, витамины группы В, препараты железа, гормоны и др.), как правило, импортного производства, которые находятся в высоком ценовом сегменте. Данные препараты также обладают побочными эффектами и вызывают неблагоприятные реакции со стороны системы иммунитета. Известны случаи стимуляции опухолевого роста после использования антианемических препаратов. На фармацевтическом рынке не существует средств, имеющих доказательную базу безопасности применения у онкологических пациентов, способных одновременно снижать токсическое действие цитостатиков и повышать их эффективность в отношении опухоли и метастазов.

Известно, что *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* содержат широкий спектр биологически активных веществ (БАВ), в частности, антоцианов, для которых известны следующие свойства: антиоксидантные (Sarv V. et al., 2021; Ren Y. et al., 2022; Trajkovska M. et al., 2024), противодиабетические (Bailie A. et al., 2016), противовоспалительные (Ali M.S. et al., 2021), сосудопротекторные (Ahles S. et al., 2020), кардиопротекторные (Korić E. et al., 2025), нейропротекторные (Magrone T. et al., 2019; Das G. et al., 2024), гепатопротекторные (Fomenko S.E. et al., 2016), иммуномодулирующие (Iwashima T. et al., 2019). Встречаются сведения о способности этих растений

ингибировать опухолевый процесс (Hwang E.-S. et al., 2018; Bobinaitė R. et al., 2020; Diaconeasa Z. et al., 2020; Sołtys A. et al., 2020; Tikhonova M.A. et al., 2024).

В научной литературе нет сведений об исследовании фармакологической активности веществ этого класса на фоне цитостатической терапии.

Цель исследования: изучить влияние антоциансодержащих растительных комплексов из плодов *Sorbus aucuparia* L. и *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott на развитие перевиваемых опухолей и эффективность химиотерапии, оценить возможность и механизмы коррекции с их помощью эритропоэзугнетающего действия цитостатиков.

Задачи исследования

1. Изучить влияние антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* L. и *A. melanocarpa* (Michx.) Elliott на развитие перевиваемых опухолей (карцинома лёгких Льюис, рак лёгкого-67, меланома B-16).
2. Исследовать действие антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* L. и *A. melanocarpa* (Michx.) Elliott на эффективность терапии циклофосфаном у животных с перевиваемыми опухолями (карцинома лёгких Льюис, рак лёгкого-67, меланома B-16).
3. Провести сравнительный анализ эффективности доксорубицина на фоне курсового назначения антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* L. и *A. melanocarpa* (Michx.) Elliott у мышей с карциномой лёгких Льюис.
4. Выявить изменения в системе крови (периферическая кровь, костный мозг, клетки-предшественники) у мышей без опухоли на фоне цитостатической миелосупрессии, индуцированной доксорубицином, под действием антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* L. и *A. melanocarpa* (Michx.) Elliott.
5. Изучить влияние антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* L. и *A. melanocarpa* (Michx.) Elliott на состояние системы крови (периферическая кровь, костный мозг, клетки-предшественники) у мышей с карциномой лёгких Льюис.
6. Провести сравнительный анализ эффективности включения антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* L. и *A. melanocarpa* (Michx.) Elliott в схему цитостатической терапии в качестве стимуляторов эритроидного ростка кроветворения, угнетенного доксорубицином, у мышей с карциномой лёгких Льюис.
7. Исследовать механизмы стимулирующего влияния антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* L. и *A. melanocarpa* (Michx.) Elliott на эритропоэз, регенерирующий после введения доксорубицина у мышей с карциномой лёгких Льюис.
8. Оценить изменения уровня ДНК-повреждений в костном мозге мышей на фоне цитостатической терапии под действием антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* L. и *A. melanocarpa* (Michx.) Elliott.

Научная новизна

Впервые исследовано влияние антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* на эффективность цитостатической терапии у мышей с перевиваемыми опухолями (карцинома лёгких Льюис, рак лёгкого-67, меланома В-16). Показано, что включение растительных комплексов в схему химиотерапии приводит к повышению противометастатической активности циклофосфана. Антоциансодержащий комплекс из плодов *S. aucuparia* усиливает ингибирующее действие доксорубицина на развитие карциномы лёгких Льюис, в то время как использование антоциансодержащего комплекса из плодов *A. melanocarpa* совместно с этим цитостатическим препаратом не изменяет эффективности последнего. Кроме того, изолированное применение антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* приводит к торможению роста первичного опухолевого узла у животных с меланомой В-16 и карциномой лёгких Льюис, а также процесса метастазирования у мышей с карциномой лёгких Льюис и раком лёгкого-67.

Впервые показано снижение гематологической токсичности доксорубицина и циклофосфана с помощью антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* у животных как с опухолью, так и без нее, проявляющееся в стимуляции восстановления преимущественно эритрона. Установлено, что эффективность корректорного действия антоциансодержащих комплексов на эритроидный росток кроветворения сравнима с таковой у референс-препарата эпоэтина-бета (рекормон) в условиях доксорубицин-индуцированной анемии у мышей с карциномой лёгких Льюис. Показано, что комбинированное использование антоциансодержащего комплекса из плодов *S. aucuparia* с цитостатиком приводит на ранних сроках к более выраженной стимуляции колониеобразующей способности предшественников эритропоэза. Напротив, антоциансодержащий комплекс из плодов *A. melanocarpa* на фоне доксорубицин-индуцированной анемии ускоряет дифференцировку прекурсоров эритроидного ряда в костном мозге животных с опухолью в поздние сроки исследования.

Новыми являются сведения о том, что включение в схему химиотерапии антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* приводит к активации как локального, так и дистантного механизмов регуляции эритрона. Выявлено прямое действие растительных комплексов на эритроидные клетки-предшественники – КОЕ-Э. Кроме описанных механизмов важную роль в стимуляции регенерации подавленного доксорубицином эритропоэза с помощью антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* играет их генопротекторное действие в отношении ядросодержащих клеток в костном мозге.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость исследования заключается в выявлении фармакологической активности антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa*, проявляющейся в повышении эффективности

цитостатической терапии и снижении токсичности в отношении эритроидного ростка кроветворения, в определении механизмов их действия. Практическим результатом выполненной работы может стать создание на основе исследуемых антоциансодержащих комплексов из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* новых отечественных препаратов, способных одновременно защитить организм от нежелательного побочного действия проводимой химиотерапии – анемии и повысить эффективность и результативность лечения.

По результатам проведенной работы были получены 4 патента на изобретение: № 2578457 от 25.02.2016 «Средство, обладающее противоопухолевой и антиметастатической активностью, повышающее противометастатическое действие циклофосфана», № 2634572 от 31.10.2017 «Средство для коррекции нарушений в эритроидном ростке кроветворения, вызванных цитостатическим воздействием», № 2657602 от 14.06.2018 «Средство, обладающее антиметастатической активностью и повышающее противометастатическое действие циклофосфана», № 42657814 от 15.06.2018 «Антиметастатическое средство», а также свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2025625612 от 01.12.25 «База данных морфометрических показателей развития перевиваемых опухолей у мышей линии С57Bl/6».

Методология и методы исследования

Объектами исследования явились антоциансодержащие комплексы из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa,* выделенные на кафедре фармацевтического анализа Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (заведующий – д-р фарм. наук, проф. М.В. Белоусов). В качестве тест-систем при изучении фармакологической активности использованы мыши-самки линии С57Bl/6. Согласно поставленным задачам выбраны современные высокоинформативные методологические подходы для исследования влияния антоциансодержащих комплексов из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* на эффективность цитостатической терапии и снижения её гематологической токсичности, изучения механизмов их антианемического действия (*in vivo, in vitro* и *in silico*). Для моделирования опухолевого процесса использовали штаммы перевиваемых опухолей: карциному лёгких Льюис, рак лёгкого-67 и меланому В-16. Антоциансодержащие комплексы вводили в комбинации с алкилирующим агентом циклофосфаном и противоопухолевым антрациклиновым антибиотиком доксорубицином. Стандартными методами экспериментальной онкологии оценивали рост первичного опухолевого узла и процесс метастазирования. Показатели периферической крови определяли на ветеринарном гематологическом анализаторе Mythic 18 vet («Orphee», Швейцария). Подсчёт лейкоцитарной формулы и миелограмм проводили стандартными гематологическими методами. Исследование механизмов антианемического действия растительных комплексов проводили с помощью культуральных,

гематологических, иммунологических методов исследования. Для анализа возможного взаимодействия с рецепторами (TLR4, CCR2, IL-4Rα, IFN-γ, PPAR-γ, EpoR) клеток был использован метод *in silico* (молекулярный докинг). Оценка механизмов защитного действия антоциансодержащих комплексов из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* на ДНК клеток костного мозга мышей в условиях цитостатической терапии проводилась путем учета аберраций хромосом и метода ДНК-комет. Экспериментальные данные обрабатывали с применением соответствующего программного обеспечения и методов статистического анализа.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Курсовое изолированное использование антоциансодержащих комплексов из плодов *Sorbus aucuparia* L. и *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott оказывает противоопухолевое и антиметастатическое действие у животных с перевиваемыми опухолями.

2. Включение в схему химиотерапии антоциансодержащего комплекса из плодов *Sorbus aucuparia* L. повышает противометастатическую активность как циклофосфана, так и доксорубицина. Назначение антоциансодержащего комплекса из плодов *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott приводит к усилению противометастатического действия циклофосфана, не меняя ингибирующего действия доксорубицина на процесс диссеминации опухоли.

3. Применение антоциансодержащих комплексов из плодов *Sorbus aucuparia* L. и *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott на фоне развития анемии, индуцированной однократным введением доксорубицина, приводит к ускорению восстановления эритроидного ростка кроветворения как у мышей с карциномой лёгких Льюис, так и у животных без опухоли.

4. В основе эритропоэзстимулирующего действия антоциансодержащего комплекса из плодов *Sorbus aucuparia* L. в условиях цитостатической миелосупрессии у мышей с карциномой лёгких Льюис лежит как активация локального и дистантного механизмов регуляции эритроидного ростка кроветворения, так и прямое влияние растительного комплекса на эритроидные клетки-предшественники, что приводит к раннему повышению колониеобразующей способности костного мозга.

5. Включение антоциансодержащего комплекса из плодов *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott в схему химиотерапии у мышей с опухолью активирует преимущественно механизмы локального контроля эритропоэза, которые обеспечивают ускорение дифференцировки прекурсоров эритроидного ряда в костном мозге в поздние сроки исследования.

6. Антоциансодержащие комплексы из плодов *Sorbus aucuparia* L. и *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott снижают генотоксичность цитостатической терапии в отношении клеток костного мозга животных с карциномой лёгких Льюис.

Степень достоверности и апробации результатов

Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается достаточным объёмом экспериментальных исследований, использованием современных методологических подходов, соответствующих

поставленным задачам, адекватными критериями статистической обработки данных, наличием публикаций в журналах, в том числе, индексируемых в международных базах данных Scopus и/или Web of Science, патентов на изобретения, полученных по теме диссертации.

Основные положения диссертационной работы докладывались, обсуждались и представлялись: на II Всероссийской научной конференции «Современная лекарственная токсикология: фундаментальные и прикладные аспекты» (Томск, 2017); конференции молодых учёных «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической фармакологии» (Томск, 2017); Международной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Перспективы развития фундаментальных наук» (Томск, 2018, 2020); Конгрессе молодых учёных «Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины» (Томск, 2018, 2020), Международной конференции «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии» (Гурзуф, 2018); Всероссийской научной конференции «Патофизиология и фармакология системы крови» (Томск, 2019); Международной научно-практической конференции «Разработка лекарственных средств–традиции и перспективы» (Томск, 2021, 2023, 2024); Международной конференции «Генетические технологии в трансляционной биомедицине» (Томск, 2022, 2025); II научной конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные исследования в фармакологии» (Москва, 2022); Всероссийском форуме молодых учёных, посвященном 300-летию Российской академии наук и 80-летию создания Академии медицинских наук СССР (РАМН) «Медицинская наука: вчера, сегодня, завтра» (Москва, 2024); Международной конференции «Научные чтения, посвященные 60-летию кафедры генетики и клеточной биологии Томского государственного университета» (Томск, 2024); Всероссийской научной конференции, посвященной 40-летию НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга «Фармакологические подходы в регенеративной медицине» (Томск, 2024); Всероссийской конференции с международным участием «Достижения фундаментальной науки – практической медицине», посвященной 50-летию медико-биологического факультета Сибирского государственного медицинского университета (Томск, 2025).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 38 печатных работ, из них 12 статей – в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора наук, в том числе 7 – в изданиях, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования Scopus, Web of Science; 4 патента РФ на изобретение и 1 свидетельство о регистрации базы данных; 21 тезис опубликован в материалах всероссийских и международных научных конференций.

Личный вклад автора

Автор принимала непосредственное участие в разработке концепции исследования, формулировании цели и задач, планировании, организации и выполнении экспериментов, подборе и анализе отечественной и зарубежной литературы по теме исследования. Вклад автора состоит в определении методологических подходов, позволяющих наиболее полно решить поставленные в работе задачи, в выполнении всего комплекса запланированных экспериментов, проведении статистического анализа полученных данных и их интерпретации. Автором подготовлены к опубликованию основные результаты диссертационной работы в виде статей, тезисов и патентов.

Структура и объём диссертации

Диссертация изложена на 306 страницах машинописного текста, иллюстрирована 19 рисунками, 57 таблицами и состоит из введения, обзора литературы, описания применяемых материалов и методов, результатов собственных исследований и обсуждения, заключения, выводов, списка цитируемой литературы, включающего 368 источников, из них 122 отечественных и 246 зарубежных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы диссертации, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость. Проводятся сведения о методах исследования, апробации и публикациях основных результатов, личном вкладе автора и структуре диссертации.

В первой главе диссертации проведен анализ отечественной и зарубежной научной литературы по теме исследования. Представлены сведения о современном состоянии противоопухолевой терапии злокачественных новообразований, её побочных эффектах и основных способах их снижения, а также о фармакологических свойствах *S. aucuparia* и *A. melanocarpa,* химическом строении и биологической активности входящих в их состав БАВ.

Вторая глава диссертации посвящена описанию материала и методов исследования. Эксперименты проведены на 1410 мышах-самках линии C57Bl/6. Животных 1 категории (конвенциональные мыши) получали из отдела экспериментального биомоделирования НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ (сертификат качества № 188-05). Содержание животных и экспериментальный дизайн были одобрены Этическим комитетом НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга (протокол № 196012022 от 13.12.2016).

Трансплантацию карциномы лёгких Льюис (LLC) производили мышам внутримышечно (в/м) по $5 \cdot 10^6$ или $1 \cdot 10^6$ опухолевых клеток в 0,1 мл физиологического раствора. Рак лёгкого-67 (РЛ-67) и меланому В-16 (В-16) животным перевивали в/м опухолевой взвесью в физиологическом растворе

по $5 \cdot 10^6$ клеток в объёме 0,1 мл (Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, 2013).

Циклофосфан (ЦФ) (ОАО «Биохимик», г. Саранск) вводили однократно внутрибрюшинно (в/бр) животным с LLC, РЛ-67 и В-16 на 10 сут после трансплантации опухолей в дозе, вызывающей умеренное торможение роста опухоли и метастазов – 125 мг/кг. Доксорубицин (ДКС) под торговым названием Адрибластин (Phizer, США) использовали однократно в/бр у животных как без опухоли, так и с LLC на 10 сут после трансплантации опухоли в максимально переносимой дозе (МПД) – 6 мг/кг.

В работе исследовались противоопухолевые, антиметастатические свойства 3 образцов антоциансодержащих растительных комплексов (АСК): антоциансодержащие комплексы из плодов *S. aucuparia*, приготовленные на 40% этаноле (АСК S-40) и 95% подкисленном этаноле (АСК S-95), антоциансодержащий комплекс из плодов *A. melanocarpa,* приготовленный на 95% подкисленном этаноле (АСК А-95). Оценка гемостимулирующей, генозащитной активностей дана АСК S-95, АСК А-95. Экспериментальная партия АСК, полученная по оригинальным технологиям, и сведения об их физико-химических свойствах были предоставлены кафедрой фармацевтического анализа ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России. Полученные образцы АСК были стандартизированы по содержанию фенольных соединений общепринятыми методами (Андреева В.Ю. и др., 2013; Государственная фармакопея РФ, 2018; Коломиец Н.Э. и др., 2011; Красникова Е.В., 2003) (таблицы 1, 2).

Содержание цианидин-3-О-глюкозида доводили в каждом исследованном образце антоциансодержащего комплекса из плодов *A. melanocarpa* до 5,83, *S. aucuparia* - 3,30 % на сухой остаток в соответствии с Государственной фармакопеей РФ XV издания (Государственная фармакопея РФ, 2026).

Таблица 1 – Содержание фенольных соединений в антоциансодержащих комплексах (АСК) из плодов *Sorbus aucuparia* L. (% на сухой остаток)

БАВ	Объект исследования	
	АСК из плодов *S. aucuparia* L. (40% этанол)	АСК из плодов *S. aucuparia* L. (95% подкисленный этанол)
Сумма фенольных соединений, в том числе:	6,90±0,35	7,30±0,37
Флавоноиды	0,17±0,01	0,11±0,01
Антоцианы	0,72±0,04	3,30±0,20
Фенолокислоты	2,59±0,13	2,97±0,15
Дубильные вещества	0,10±0,01	0,19±0,01
Примечание: представлены данные исследований д-ра фарм. наук Г.И. Калинкиной, канд. фарм. наук Н.В. Исайкиной		

В исследовании *in vivo* АСК использовались в дозах 1 и 5 мл/кг, которые деалкоголизировали на водяной бане, доводили до прежнего объёма дистиллированной водой и начинали вводить внутрижелудочно (в/ж) через 24 ч после инъекции ДКС ежедневно в течение 14 сут (животные без опухоли), 9 сут (животные с LLC). Животных с LLC, РЛ-67, В-16 в условиях однократного введения ЦФ начинали лечить АСК через 7 сут после перевивки, ежедневно в течение 13 сут. Согласно данным химического анализа фенольных соединений, в 1 мл антоциансодержащего комплекса из плодов *S. aucuparia*, полученного на 40% этаноле, в расчете на сухой остаток содержание антоцианов составляет 7,2 мг; в 5 мл – 36 мг. Содержание антоцианов в 1 мл антоциансодержащего комплекса из плодов *S. aucuparia*, полученного на 95% подкисленном этаноле в расчете на сухой остаток составляет 33 мг; в 5 мл – 165 мг; в 1 мл антоциансодержащего комплекса из плодов *A. melanocarpa,* полученного на 95% подкисленном этаноле, в расчете на сухой остаток содержание антоцианов составляет 45 мг; в 5 мл – 225 мг.

Таблица 2 – Содержание фенольных соединений в антоциансодержащем комплексе (АСК) из плодов *A. melanocarpa* (Michx.) Elliott., полученном на 95% подкисленном этаноле (% на сухой остаток)*

БАВ	Объект исследования
	АСК из плодов *A. melanocarpa* (Michx.) Elliott.
Антоцианы	5,83±0,25
Флавоноиды	3,25±0,20
Фенолокислоты	0,27±0,01
Катехины	0,24±0,02
Органические кислоты	4,70±0,40
Аскорбиновая кислота	0,87±0,02
Примечание: * – представлены данные исследований д-ра фарм. наук Г.И. Калинкиной, канд. фарм. наук В.Ю. Андреевой	

В экспериментах *in vitro* клетки костного мозга здоровых животных культивировали с АСК в концентрациях 30, 150 и 300 мкг/мл. Концентрации были выбраны согласно анализу литературных данных (Migliorini A.A. et al., 2019; Bai X. et al., 2022).

В качестве препарата сравнения при оценке гемостимулирующей активности использовали эпоэтин бета (Рекормон, «Ф. Хоффманн-Ля Рош Лтд», Швейцария) который вводили животным подкожно в дозе 10 Ед/мышь, начиная с 9 сут после перевивки опухоли в течение 5 сут.

По окончании экспериментов проводили эвтаназию животных, их вскрытие с последующей ревизией внутренних органов, выделением опухоли и метастазов. При этом оценивали возможность повышения противоопухолевой и антиметастатической активности цитостатиков с помощью АСК. Вычисляли процент торможения роста опухоли (ТРО),

частоту метастазирования (ЧМ). Подсчитывали среднее количество метастазов у одного животного в группе, определяли диаметр метастазов, вычисляли их среднюю площадь. Величину различия метастазирования опухоли между контролем и опытом оценивали по индексу ингибирования метастазирования (ИИМ) (Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, 2013).

Показатели периферической крови (количество эритроцитов, тромбоцитов, гранулоцитов, лимфоцитов, моноцитов, общее количество лейкоцитов, содержание в крови гемоглобина и гематокрит) у мышей, получавших цитостатик, изучали на 3, 5, 7, 10, 12 и 15 сут после его введения, а также у здоровых животных (интактный контроль, 0 сут) с помощью автоматического гематологического ветеринарного анализатора Mythic 18 vet («Orphee», Швейцария). Подсчёт количества ретикулоцитов в периферической крови, миелограмм костного мозга проводили стандартными гематологическими методами (Гольдберг Е.Д. и др., 1992).

Для изучения механизмов антианемического действия АСК использовали методы клонирования прекурсоров эритропоэза *in vitro,* подсчитывали число выросших колоний (КОЕ-Э) и кластеров (КлОЕ-Э). Под колониями подразумевали образовавшиеся в процессе культивирования очаги гемопоэза, содержащие более 50 клеток, под кластерами – от 3 до 50 клеток. Интенсивность созревания кроветворных прекурсоров определяли по величине индекса созревания (отношение числа кластеров к количеству колоний, выросших в той же лунке) (Гольдберг Е.Д. и др., 1992).

Тестирование эритропоэтической активности (ЭПА) супернатантов от прилипающих или неприлипающих клеток костного мозга, а также сыворотки периферической крови, проводили микрометодом в 96-луночных пластиковых планшетах («Corning», США) стандартным методом (Гольдберг Е.Д. и др., 1992).

Уровень эритропоэтина в кондиционных средах клеток костного мозга и сыворотках периферической крови измеряли иммуноферментным методом с использованием соответствующих тест-систем (Cloud-Clone Corp., США) согласно прилагаемому протоколу.

Для оценки цитогенетических нарушений через 24, 48 ч после введения цитостатика исследовали хромосомы в метафазных пластинках костного мозга по модифицированному методу Форда. В клетках костного мозга учитывали долю поврежденных метафазных пластинок, клетки с увеличенным набором хромосом (с хорошим разбросом хромосом, одинаковых по структуре, без наложений) в процентах, аберрантные хромосомы на 100 клеток. Среди структурных нарушений хромосом отмечали одиночные, парные фрагменты и обмены, клетки с множественными аберрациями. Сроки исследования (24 ч и 48 ч) были выбраны с целью изучения в динамике процесса становления и элиминации мутаций (Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, 2013).

Для оценки ДНК-повреждений использовался метод ДНК-комет в щелочной версии в соответствии с рекомендациями (Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, 2013). Анализ проводился на флуоресцентном микроскопе (Микромед 3 Люм, Россия), совмещенном с цифровой камерой высокого разрешения, при увеличении х 200. Полученные с микропрепаратов изображения ДНК-комет фотографировали и анализировали с использованием программного обеспечения CometD. В качестве показателя поврежденности ДНК использовано процентное содержание ДНК в хвосте клеток костного мозга и опухолевой ткани (% ДНК в хвосте), а также процент апоптотических клеток в опухолевой ткани. В одном микропрепарате проанализировано 100 клеток.

Для проведения молекулярного докинга были использованы структуры рецепторов: TLR4 (код 3FXI), CCR2 (код 5TLA), IL-4Rα (код 3BPL), IFN-γ (код 6E3I), PPAR-γ (код 2P4Y), EpoR (код 1ERN), полученные путем загрузки кристаллической структуры из базы данных RCSB Protein Data Bank в формате pdb, с их соответствующими идентификаторами. Подготовку структур молекул белка осуществляли в программе Molegro Virtual Docker (MVD 2013.6.0), проводилось определение ковалентных связей и их подвижности, гибридизации, присвоение зарядов и добавление атомов водорода, последующее объединение зарядов и удаление молекул воды. Структурная формула малой молекулы лиганда – цианидина, получена из базы данных химических соединений PubChem (идентификатор PubChem: 128861) в формате sdf, подготовка трехмерной структуры молекулы и оптимизация конформации проведена с помощью пакета программ Chem Office 16.0. Поиск полостей и выявление сайтов связывания в структурах белков также осуществлялись с помощью программы MVD. Непосредственно моделирование белок-лигандных взаимодействий осуществлялось с помощью открытого сервера «The RosettaDock server», который является веб-интерфейсом к пакету программного обеспечения для проведения молекулярного докинга. Комплексы с лигандом были сгенерированы для каждого рецептора (2000 стыковочных поз), наиболее выгодные структуры были ранжированы по показателю IntrefaceDelta. Для оценки RMSD (Root Mean Square Deviation), показателя, являющегося мерой различия между двумя наборами атомных координат – экспериментальная и расчетная структуры, использовали программу PyMOL (3.1.5.1).

Обработку полученных результатов проводили после проверки распределения на нормальность с помощью критерия Шапиро-Уилка с использованием программы GraphPad Prism 8.0.1 (GraphPad Software Inc., США). В случае нормального распределения вариант в сравниваемых выборках для определения достоверности различий между ними использовали t-критерий Стьюдента. При отклонении распределения от нормального применяли непараметрические критерии Краскела–Уоллиса (H) и Вилкоксона-Манна-Уитни (U). Достоверность различий между качественными признаками проверяли при помощи точного теста Фишера. Различия между группами считали достоверными при $P<0,05$. Результаты

выражали как среднее ± стандартное отклонение (M±SD) (Баврина А.П., 2020; 2021).

В третьей и четвертой главах диссертации представлены результаты собственных исследований и их обсуждение. Числовые данные представлены в виде таблиц, рисунков и гистограмм.

Первый этап работы посвящён изучению влияния антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* на развитие перевиваемых опухолей и эффективность ЦФ. Для исследования были выбраны широко используемые в мировой практике экспериментальные модели опухолей: карцинома лёгких Льюис, рак лёгкого-67, меланома В-16.

Если изолированное введение ЦФ мышам с LLC привело к умеренному торможению роста опухоли и метастазов, то при его совместном назначении с АСК S-40 наблюдалось повышение противометастатического действия цитостатика. Подобные результаты были получены и при комбинированном использовании АСК S-95 в дозах 1 и 5 мл/кг совместно с ЦФ: количество метастазов и их площадь у мышей оказались многократно меньше, ЧМ составила 20% и 38% против 90% у животных группы монохимиотерапии. Следует отметить, что в группах комбинированной терапии ИИМ оказался наивысшим, достигая 99%.

В случае изолированного назначения мышам с LLC растительных комплексов из *S. aucuparia,* приготовленных на разных экстрагентах, установлено, что при отсутствии влияния на развитие опухоли у АСК S-40, антоциансодержащий комплекс из *S. aucuparia,* приготовленный на 95% этаноле, оказал как противоопухолевое, так и противометастатическое действие.

Снижение токсичности на гемопоэз проявлялось преимущественно в отношении эритропоэза и, судя по его основным показателям в периферической крови (количество эритроцитов, уровень гемоглобина), наблюдалось лишь при использовании АСК S-95 совместно с ЦФ.

В таблице 3 представлены сводные результаты влияния АСК S-40 и АСК S-95 на развитие LLC и эффективность ЦФ.

Таблица 3 – Влияние антоциансодержащих комплексов из плодов *Sorbus aucuparia L.*, приготовленных на 40% этаноле (АСК S-40) и 95% этаноле (АСК S-95), на развитие карциномы лёгких Льюис и эффективность терапии циклофосфаном

Антоциансодержащие комплексы	Ингибирующее действие		Повышение эффективности химиотерапии	
	на опухоль	на метастазы	на опухоль	на метастазы
1. АСК S–40	–	–	–	+
2. АСК S–95	+	+	–	+
Примечание: «+» – эффект есть; «–» – эффект отсутствует				

Сотрудниками кафедры фармацевтического анализа ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России было показано влияние экстрагента на выход антоцианов из плодов *S. aucuparia.* Установлено, что фенольные соединения АСК из плодов *S. aucuparia* представлены в основном антоцианами (цианидин-3-О-глюкозид) и проантоцианидинами (лейкоантоцианами), оптимальным экстрагентом для извлечения которых из сырья является 95% подкисленный этанол (Исайкина Н.В. и др., 2015).

Антоцианы – биологически активные вещества из группы флавоноидов, обладающие противоопухолевыми, антиметастатическими, антиоксидантными, иммуномодулирующими, противовоспалительными свойствами (Merecz-Sadowska A. et al., 2023).

Согласно данным ВЭЖХ, исследуемые комплексы также имеют в своём составе другие фенольные соединения и отличаются наличием в составе АСК S-40 изокверцетина, а в составе АСК S-95 – кверцетина, а также коричной и салициловой кислот.

Таким образом, наиболее перспективным для дальнейшего исследования в качестве нового фармакологического средства для дополнительной терапии опухолей с целью повышения эффективности и снижения токсичности применяемой химиотерапии является АСК, приготовленный на 95% этаноле, в связи с высоким содержанием в нем антоцианов, которые обладают широким спектром фармакологической активности.

Другим объектом исследования явился приготовленный на 95% этаноле антоциансодержащий комплекс из плодов *A. melanocarpa* (АСК А-95), используемый в аналогичном режиме с АСК S-95. Концентрация экстрагента выбрана в связи с тем, что, согласно данным химического анализа, использование этанола в этой концентрации приводит к большему выходу антоцианов в растительный комплекс. В ходе эксперимента на животных с LLC показано, что при включении в схему химиотерапии АСК А-95 наблюдается дозозависимое снижение количества и площади метастазов в лёгких (рисунок 1). ИИМ в группе животных, получавших АСК А-95 в большей дозе совместно с ЦФ, достиг максимальных значений и составил 98% против 48% у мышей, которым вводили только цитостатик. Изолированное назначение мышам с опухолью АСК А-95 в дозах 1 и 5 мл/кг приводит к достоверному уменьшению площади метастатического поражения. На фоне химиотерапии не отмечено действия АСК А-95 на показатели периферической крови у животных с опухолью, сниженные после введения ЦФ.

Согласно рекомендациям по доклиническим исследованиям (2005, 2013), для подтверждения противоопухолевого и антиметастатического действия новых фармакологических веществ, а также их влияния на эффективность химиотерапии, помимо LLC обязательными экспериментальными моделями *in vivo* являются В-16 и РЛ-67, поэтому на следующем этапе исследования в экспериментах использовались эти модели метастазирующих опухолей.

На мышах с перевитым РЛ-67 выявлено, что на фоне умеренного ингибирующего влияния ЦФ на процесс диссеминации опухоли, использование АСК S-95 и АСК А-95 приводит к повышению противометастатической активности цитостатика. Так, при назначении изучаемых АСК в дозах 1 и 5 мл/кг совместно с ЦФ наблюдалось достоверное многократное уменьшение количества метастазов в лёгких (рисунок 2) и их площади. Аналогичные результаты получены на животных с В-16, получавших АСК S-95 совместно с ЦФ. Повышения эффективности химиотерапии у мышей с В-16 под воздействием АСК А-95 не обнаружено.

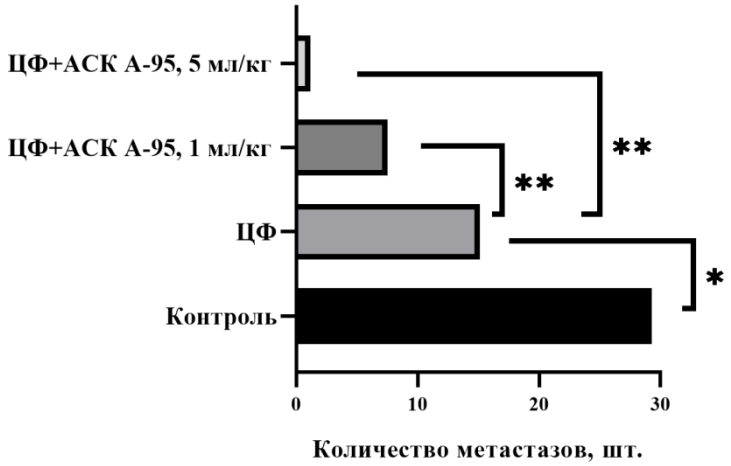


Рисунок 1 – Количество метастазов у мышей с карциномой лёгких Льюис, получавших совместно с циклофосфаном (ЦФ) антоциансодержащий комплекс из плодов *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott (АСК А-95), приготовленный на 95% этаноле.
Примечание: * – статистически значимые различия показателя по отношению к группе нелеченых животных (Контроль) (P<0,01);
** – статистически значимые различия показателя по отношению к группе животных, получавших только ЦФ (P<0,05)

При изолированном назначении изучаемых АСК животным с РЛ-67 отмечено их антиметастатическое действие. На модели В-16 показано, что введение мышам АСК из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* приводит к ингибиции роста первичного опухолевого узла.

Таким образом, полученные данные по изучению влияния АСК S-95 и АСК А-95 на развитие перевиваемых опухолей животных и эффективность цитостатического лечения подтверждают возможность создания на их основе препаратов для дополнительной терапии злокачественных новообразований.

В проведенных нами экспериментах показано, что, помимо противоопухолевого и антиметастатического действия, растительные комплексы из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* способны повышать эффективность химиотерапии. Кроме того, в экспериментах на мышах с LLC установлена возможность снижения гематотоксичности цитостатической терапии АСК из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa*. В связи с этим, целью следующего этапа исследования явилось изучение их влияния на состояние системы крови мышей на фоне цитостатической миелосупрессии.

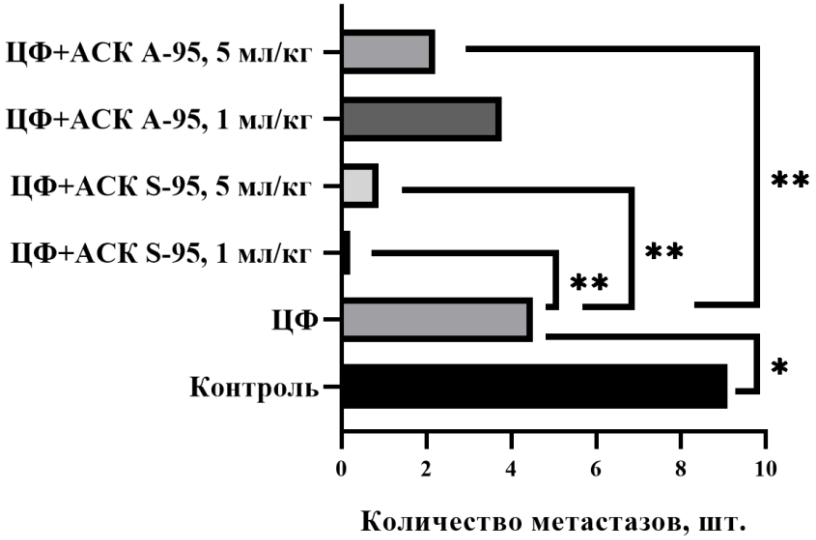


Рисунок 2 – Количество метастазов у мышей с раком лёгкого-67, получавших совместно с циклофосфаном (ЦФ) антоциансодержащие комплексы из *Sorbus aucuparia* L. (АСК S-95) и из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott (АСК А-95), приготовленных на 95% этаноле.
Примечание: * – статистически значимые различия показателя по отношению к группе нелеченых животных (Контроль) (P<0,01);
** – статистически значимые различия показателя по отношению к группе животных, получавших только ЦФ (P<0,05)

Согласно руководству по проведению доклинических исследований (2013), наличие гемостимулирующей активности у фармакологических веществ выявляется на интактных животных и на модели миелосупрессии, вызванной введением цитостатика в максимально переносимой дозе (МПД). В качестве агента, индуцирующего гипоплазию кроветворения, был выбран цитостатический препарат из группы антибиотиков антрациклинового ряда – доксорубицин (ДКС) в МПД 6 мг/кг (Дыгай А.М. и др., 2009). Он рекомендован в качестве препарата для моделирования цитостатической миелосупрессии, характеризующейся преимущественным поражением эритроидного ростка кроветворения (Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, 2013).

В эксперименте установлено, что однократное введение ДКС мышам приводит к угнетению всех ростков кроветворения. Так, в периферической крови животных на 3–7 сут эксперимента наблюдалось развитие лимфопении и анемии. Снижение содержания эритроцитов, ретикулоцитов, а также уровня гемоглобина и гематокрита в периферической крови животных было отмечено на 3 сут и продолжалось до 7–12 сут эксперимента.

Картина периферической крови соответствовала изменениям в костном мозге опытных животных. Так, на 3–12 сут после использования ДКС отмечались отчетливые признаки подавления костномозгового гемопоэза, проявляющиеся в снижении клеточности костного мозга и отдельных ростков кроветворения (миелоидный и эритроидный ростки). Изучение колоние- и кластерообразующей способности костного мозга мышей после

введения им противоопухолевого антибиотика выявило ее глубокую депрессию.

Установленные нами изменения в целом соответствуют литературным данным, касающимся действия антибиотиков антрациклинового ряда на систему крови. Известно, что ДКС вызывает угнетение гемопоэза (Чу Э. и др., 2009), и наибольшей чувствительностью к воздействию этого препарата обладает эритроидный росток кроветворения (Гольдберг Е.Д. и др., 1999; Дыгай А.М. и др., 2009).

Использование АСК из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* оказало стимулирующее действие на процессы восстановления эритропоэза, угнетенного ДКС. Ускоренная регенерация эритроидного ростка кроветворения при назначении растительных комплексов совместно с цитостатиком отмечена преимущественно в ранние сроки эксперимента (3–5 сут после введения ДКС). Так, на 3 и 5 сут после использования ДКС добавление АСК S-95 в схему химиотерапии привело к достоверному увеличению ретикулоцитов в 1,3 и 1,9 раза соответственно в периферической крови животных. Также в эти сроки исследования анализ миелограмм показал рост количества эритроидных клеток в 2,7 раза (3 сут) и 2,4 раза (5 сут). Аналогичные результаты были получены при совместном использовании ДКС с АСК А-95. Следует отметить, что восстановление эритрона под воздействием АСК А-95 сохранялось в более поздние сроки (7–12 сут после введения ДКС) (рисунок 3).

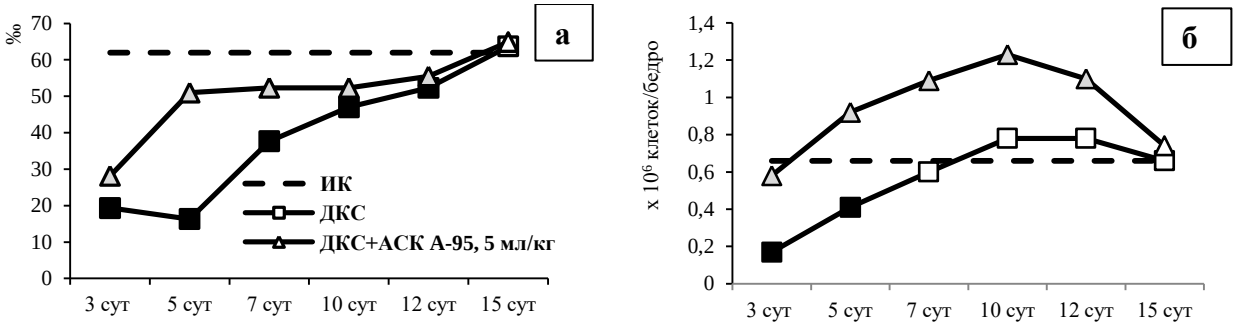


Рисунок 3 – Динамика содержания ретикулоцитов (‰)
в периферической крови (*а*) и эритроидных клеток (х 10^6 клеток/бедро)
в костном мозге (*б*) у мышей-самок линии C57Bl/6 под влиянием
антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.)
Elliott *(*АСК А-95*)* на фоне однократного введения доксорубицина (ДКС).
Примечание: по оси абсцисс – сроки исследования (сутки),
черным символом обозначены статистически значимые различия показателя
по отношению к группе интактного контроля (ИК) ($P<0,01$);
серым символом обозначены статистически значимые различия показателя
по отношению к группе животных, получавших только ДКС

Для проведения сравнительной оценки гемостимулирующего эффекта АСК из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* мы нормировали полученные результаты по контролю, определяя кратность стимуляции (отношение

величин показателей у мышей, которым вводили цитостатик со стимулятором, к таковым у животных, получавших только цитостатик).

На модели миелосупрессии, вызванной ДКС, более выраженным оказался эффект АСК А-95. Так, на 3, 7 и 10 сут опыта степень увеличения количества эритроидных клеток в костном мозге мышей под действием АСК А-95 достоверно превосходила этот показатель у животных, получавших АСК S-95. Со стороны периферического звена эритрона под действием АСК А-95 отмечалось статистически значимое увеличение содержания эритроцитов на 10 сут и ретикулоцитов – на 5 и 7 сут после введения цитостатика. В то же время, применение АСК S-95 не меняло эти показатели на протяжении всего эксперимента.

Сравнительный анализ стимулирующего эффекта растительных комплексов в отношении предшественников эритропоэза на фоне действия ДКС выявил достоверный рост числа КлОЕ-Э (на 10 и 15 сут) и КОЕ-Э (на 5 и 7 сут) под влиянием АСК из *A. melanocarpa*. В то же время, курсовое назначение АСК S-95 привело к более выраженному увеличению содержания прекурсоров эритропоэза в другие сроки исследования: КлОЕ-Э – на 7 и 12 сут и КОЕ-Э – на 3, 10 и 15 сут (рисунок 4).

Таким образом, в данном разделе работы показано, что курсовое назначение АСК из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* на фоне развития цитостатической миелосупрессии приводит к ускоренной регенерации преимущественно эритроидного ростка кроветворения за счёт повышения количества предшественников эритропоэза в костном мозге мышей. В результате наблюдается увеличение количества эритроидных клеток в костном мозге и в периферической крови. Более выраженным стимулирующим эффектом в отношении эритрона обладает АСК из *A. melanocarpa*.

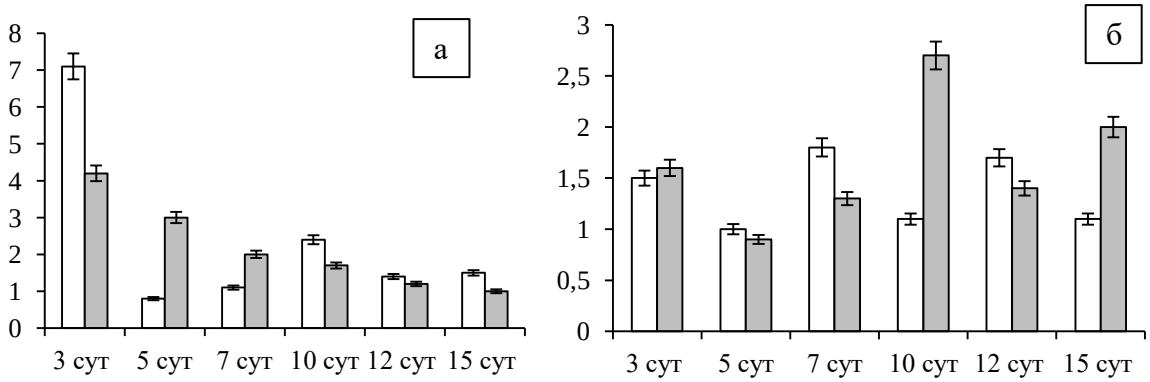


Рисунок 4 – Степень увеличения содержания КОЕ-Э (а) и КлОЕ-Э (б) в костном мозге мышей линии С57Bl/6 при применении доксорубицина и антоциансодержащего комплекса из плодов *S. aucuparia L.* (□), либо доксорубицина и антоциансодержащего комплекса из плодов *A. melanocarpa (Michx.) Elliott* (■) по сравнению с таковыми у мышей, получавших только доксорубицин (контроль).
Примечание: по оси абсцисс – сроки исследования (сутки); по оси ординат – содержание клеток, нормированное по контролю (кратность стимуляции). Доверительные интервалы при P=0,05

В ранее проведенном эксперименте была выбрана наиболее оптимальная доза ДКС (6 мг/кг), приводящая к умеренному торможению развития LLC, а также сопутствующему анемическому синдрому, которая была использована для дальнейшего изучения влияния АСК из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* на эффективность химиотерапии и на токсическое действие цитостатика на систему крови в условиях опухолевого роста.

В эксперименте установлено, что при назначении ДКС мышам с LLC наблюдалось снижение количества метастазов в лёгких. Добавление в схему лечения АСК S-95 привело к повышению противометастатического действия противоопухолевого агента: отмечено достоверное уменьшение количества и площади метастазов в лёгких, ИИМ составил 89% против 49% в группе животных, получавших только ДКС (таблица 4).

Полученные данные аналогичны ранее описанным результатам изучения влияния растительного комплекса из плодов *S. aucuparia* на эффективность лечения ЦФ мышей с LLC.

Таблица 4 – Сравнительный анализ эффективности включения антоциансодержащих комплексов из *Sorbus aucuparia* L. (АСК S-95) и из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott (АСК А-95) в схему лечения доксорубицином (ДКС) мышей с карциномой лёгких Льюис

Экспериментальные группы	ТРО, %	ИИМ, %
Серия 1		
1. ДКС	33	49
2. ДКС + АСК S-95	47	89
Серия 2		
1. ДКС	17	55
2. ДКС + АСК А-95	21	47

Выявлено, что сочетанное использование растительного комплекса из плодов *A. melanocarpa* с ДКС не изменяет эффективность последнего. Следовательно, для повышения эффективности антибластомной терапии АСК А-95 целесообразно включать в схему химиотерапии, содержащую цитостатики алкилирующего действия, например, ЦФ.

Изучение влияния развития опухоли на систему крови мышей показало, что развитие LLC на терминальной стадии своего роста (17, 20 сут после перевивки опухоли) приводит к угнетению костномозгового кроветворения. В эти сроки эксперимента в костном мозге отмечено снижение количества клеток преимущественно эритроидного ряда, явившееся причиной уменьшения числа ретикулоцитов и эритроцитов в периферической крови животных с опухолью. При изучении колониеобразующей способности клеток-предшественников эритропоэза отмечено, что развитие LLC на 15–20 сут эксперимента приводит к увеличению содержания КлОЕ-Э и КОЕ-Э в костном мозге. Возможно, этот феномен является проявлением компенсаторных механизмов, связанных с развитием анемического синдрома на фоне злокачественных новообразований.

Состояние костномозгового кроветворения во многом зависит от функциональной активности пула кроветворных клеток-предшественников, способных давать начало определенному числу зрелых специализированных клеток крови. Проведенные исследования позволили установить, что на фоне развития LLC наблюдалось увеличение содержания коммитированных клеток-предшественников эритропоэза в костном мозге животных, при этом индекс созревания в этой группе мышей оказался ниже такового у интактного контроля. Полученные результаты свидетельствуют об ингибирующем влиянии опухоли в большей степени на процесс дифференцировки клеток-предшественников эритропоэза.

При введении мышам с опухолью ДКС наблюдалось углубление депрессии костномозгового кроветворения, в основном за счёт угнетения эритроидного ростка, что соответствует данным литературы (Saito T. et al., 2019). Известно, что ДКС оказывает прямое повреждающее действие на клетки эритроидного ряда, приводя к ускоренному разрушению эритроцитов. Кроме этого, при проведении химиотерапии анемия развивается вследствие миелосупрессии, нарушения синтеза факторов гемопоэза, в том числе эритропоэтина в почках (Сакаева Д.Д., 2024).

Дана оценка корригирующего действия АСК из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* на систему крови мышей в условиях химиотерапии на фоне развития LLC. Курсовое использование АСК А-95 привело к восстановлению эритроидного ростка кроветворения в более ранние сроки исследования (3 сут после введения ДКС), в то время как назначение АСК S-95 оказало аналогичный эффект лишь на 10 сут после инъекции цитостатика.

Сравнение гемопоэзстимулирующего эффекта растительных комплексов между собой позволило установить более выраженное действие АСК А-95 на эритроидный ряд на ранних сроках после инъекции цитостатика. Так, на 3 сут отмечено превышение кратности стимуляции содержания КОЕ–Э (в 2,5 раза) и числа эритрокариоцитов в костном мозге мышей, а также КлОЕ-Э на 5 сут над таковыми после использования АСК S-95. Однако в последнем случае обнаружено более активное увеличение числа КлОЕ-Э на 3 сут наблюдения. Вероятно, результатом описанного эффекта явился более выраженный подъём количества специализированных клеток в периферической крови на 5 сут после введения цитостатика под действием АСК S-95 по сравнению с АСК А-95. И наоборот, на 7 сут наблюдалась более высокая кратность стимуляции содержания эритроцитов и ретикулоцитов в крови под действием АСК А-95 по сравнению с таковыми у мышей, получавших в комбинации с цитостатиком АСК из *S. aucuparia*. Обнаруженные факты в целом позволяют говорить о более продолжительном и более выраженном эритропоэзстимулирующем эффекте антоциансодержащего комплекса из *A. melanocarpa* на модели цитостатической миелосупрессии у животных с LLC (рисунок 5).

Таким образом, исследование влияния АСК на эффективность химиотерапии и реакции системы крови у мышей с LLC показало, что назначение АСК S-95 на фоне введения ДКС приводит к повышению

антиметастатического действия последнего. Кроме того, выявлен стимулирующий эффект в отношении клеток-предшественников эритропоэза на фоне использования цитостатика. Напротив, введение АСК А-95 практически не влияет на эффективность проводимой химиотерапии, однако его совместное назначение с ДКС оказывает стимулирующее действие как на КлОЕ-Э и КОЕ-Э, так и на более зрелые клетки эритроидного ростка кроветворения животных с опухолью.

В связи с вышеизложенным, нами была предпринята попытка изучить механизмы стимулирующего влияния АСК из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* на эритропоэз при цитостатической гемодепрессии, вызванной введением ДКС, на фоне развития опухоли.

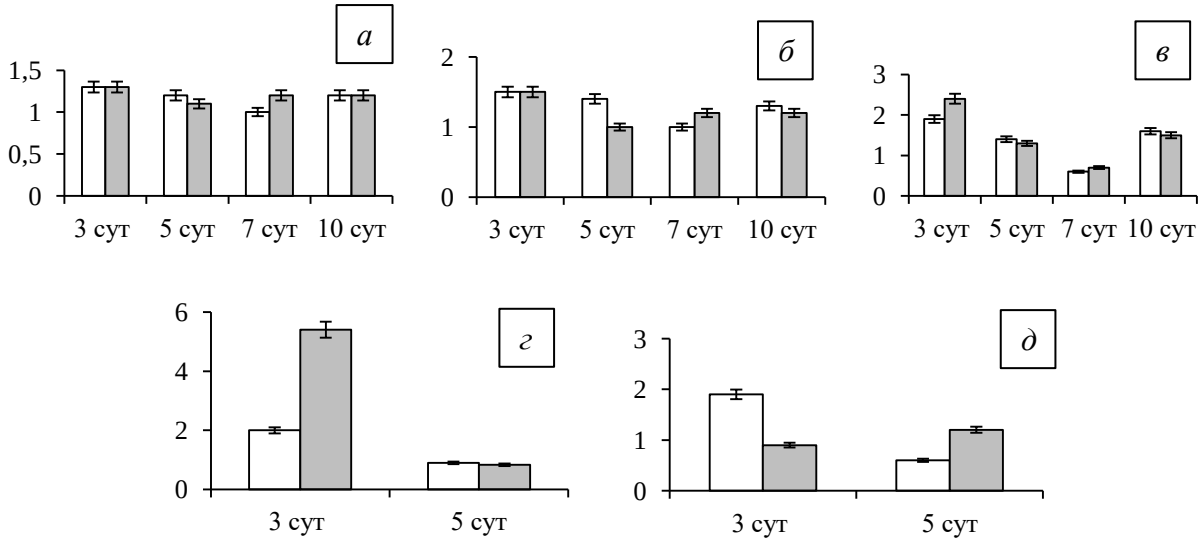


Рисунок 5 – Степень увеличения содержания эритроцитов (*а*), ретикулоцитов (*б*) в периферической крови, эритрокариоцитов (*в*), КОЕ-Э (г) и КлОЕ-Э (*д*) в костном мозге мышей линии С57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис после введения им доксорубицина и антоциансодержащего комплекса из плодов *S. aucuparia L.* (□), либо доксорубицина и антоциансодержащего комплекса из плодов *A. melanocarpa (Michx.) Elliott* (■) по сравнению с таковыми у мышей, получавших только доксорубицин (контроль).
Примечание: по оси абсцисс – сроки исследования (сутки) после введения доксорубицина; по оси ординат – содержание клеток, нормированное по контролю (кратность стимуляции). Доверительные интервалы при P=0,05

Важную роль в регуляции функциональной активности клеток-предшественников играют клеточные элементы гемопоэзиндуцирующего микроокружения (ГИМ). Известно, что свое влияние на процессы пролиферации и дифференцировки кроветворных прекурсоров клетки ГИМ осуществляют как через непосредственные клеточные контакты, так и за счёт синтеза широкого спектра гуморальных факторов (Дыгай А.М. и др., 2012).

При изучении роли гуморальных регуляторов в локальном контроле процессов пролиферации и дифференцировки предшественников эритропоэза установлено, что развитие LLC приводит к повышению эритропоэтической активности в супернатантах, полученных от

адгезирующих (13, 15 сут) и неадгезирующих (15 сут) клеток ГИМ с последующим ее уменьшением к 20 сут после перевивки опухоли.

Известно, что на ранних этапах развития гемопоэтических клеток (начиная с полипотентных стволовых кроветворных клеток) в этом процессе участвуют интерлейкины-3, -6 и -11 (Варламова О.Н. и др., 2019), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор и фактор стволовой клетки (фактор Стила). Однако наиболее выраженное действие на клетки – предшественники эритроидного ряда (бурстобразующая и колониеобразующая эритроидные единицы) оказывает эритропоэтин (ЭПО). Его эффект постепенно уменьшается по мере созревания морфологически идентифицируемых молодых эритроидных элементов (проэритробласты и нормобласты) (Удут Е.В. и др., 2009; Варламова О.Н. и др., 2019). Таким образом, основным гуморальным фактором, регулирующим работу эритроидного ростка кроветворения, является эритропоэтин.

При определении концентрации эритропоэтина в супернатантах адгезирующих элементов ГИМ, полученных от животных с LLC, отмечено, что на ранних сроках развития опухоли (13 сут) наблюдается усиление синтеза ЭПО в 5,4 раза ($P<0,05$), с последующим его снижением в 5,7 раза ($P<0,05$) к 20 сут эксперимента относительно соответствующего показателя в группе мышей интактного контроля.

Оценка дистантных механизмов регуляции эритропоэза показала, что на фоне роста первичного опухолевого узла ЭПА сыворотки крови не изменилась. При этом концентрация эритропоэтина в этой же биологической жидкости достоверно снизилась в 1,2 раза относительно фонового значения.

Полученные результаты соответствуют данным литературы. Многие учёные связывают такой эффект с аномальной активностью иммунной системы у пациентов со злокачественными новообразованиями (Кононенко И.Б. и др., 2025). Известно, что на раннем этапе развития опухолей активируется классический путь трансформации моноцитов (провоспалительный иммунный ответ) (Бережная Н.М. и др., 2005). Для этого типа поляризации моноцитов характерен синтез различных медиаторов воспаления, которые снижают время жизни эритроцитов со 120 до 90–60 дней (Королева И.А., 2023). Показано, что под воздействием TNFα и IL-1 повреждаются клетки почек, продуцирующие эритропоэтин, что приводит не только к уменьшению его образования, но и к снижению его биологической активности (Романенко Н.А., 2019). Другим фактором, приводящим к угнетению эритроидного ростка кроветворения, может быть негативное влияние провоспалительных цитокинов (IFNγ/α, TNFα и IL-1) на клетки-предшественники эритропоэза. Такое воздействие может привести к нарушению пролиферации и дифференцировки этих клеток. Совокупность описанных феноменов ведет к развитию анемии (Куркина Н.В. и др., 2021). Соответствующие результаты были получены в наших экспериментах, проведенных на мышах с LLC. Так, на 15 и 20 сут наблюдения отмечено достоверное снижение содержания ретикулоцитов в 1,2 раза относительно показателя в группе интактного контроля. Кроме того, в эти сроки

наблюдалось уменьшение количества эритроцитов, а также содержания гемоглобина в периферической крови мышей с опухолью (рисунок 6).

Однократное введение ДКС в дозе 6 мг/кг животным с LLC привело к гипоплазии костномозгового кроветворения. При этом имело место подавление в основном эритроидного ростка гемопоэза.

Изучение колониеобразующей способности костного мозга мышей с LLC, перенесших цитостатическое воздействие, позволило обнаружить уменьшение числа предшественников эритропоэза в 2,2 раза ($P<0,01$) в кроветворной ткани животных на 3 сут после введения антибластомного препарата, которое сменялось увеличением их количества к концу эксперимента, при этом значения данного параметра не достигали такового в контрольной группе.

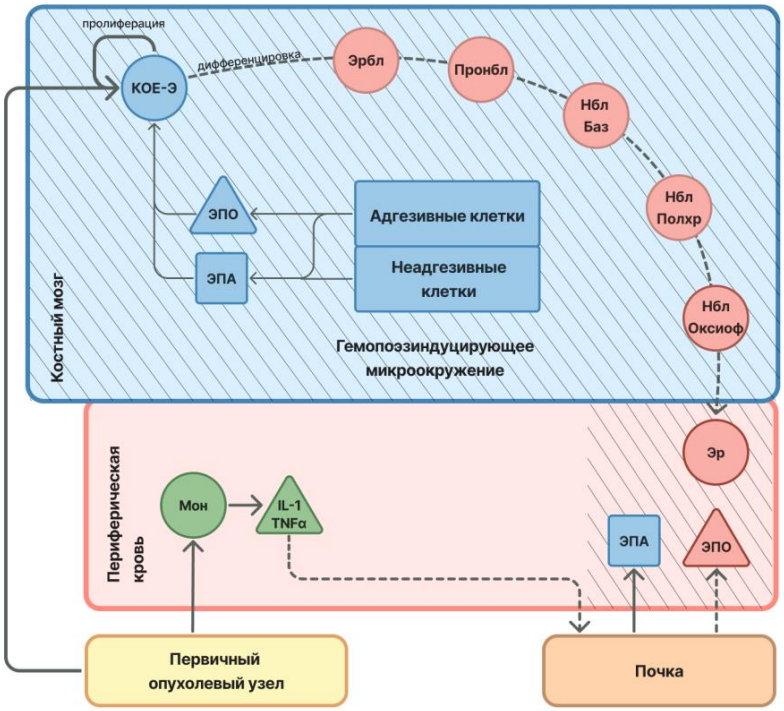


Рисунок 6 – Механизмы развития анемического синдрома на фоне развития злокачественного новообразования (по собственным результатам и данным анализируемых литературных источников) (Nemeth E. et al., 2014; Куркина Н.В. и др., 2021).

Примечание: ЭПО – эритропоэтин; Мон – моноцит; IL-1 – интерлейкин – 1; TNFα – фактор некроза опухоли альфа; КОЕ-Э – предшественник эритроидного ряда; Эрбл – эритробласт; Пронбл – пронормобласт; НблБаз – базофильный нормобласт; НблПолхр – полихроматофильный нормобласт; НблОксиоф – оксиофильный нормобласт; Эр – зрелый эритроцит; красный фон – снижение; синий фон – увеличение; линии средней толщины – изменения на фоне развития опухоли практически отсутствуют; толстые – активация; пунктирные линии – ингибиция; область, отмеченная штриховкой – собственные результаты.

Указанные изменения вероятно связаны с угнетением пролиферативной активности эритроидных прекурсоров в ранние сроки исследования. В то же

время, интенсивность созревания клеток эритроидного ряда изменялась волнообразно. Так, если коэффициент дифференцировки коммитированных предшественников на 3 сут увеличивался в 1,3 раза ($P<0,05$), то на 5, 7 сут значения этого показателя напротив достоверно снизились в 3,7 и 1,2 раза соответственно. При этом изучаемый показатель был ниже исходных значений на протяжении всего периода исследования.

Ранее сотрудниками НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга ТНИМЦ было доказано, что изменения содержания гемопоэтических клеток в костном мозге под воздействием доксорубицина имеют двухфазный характер (Дыгай А.М. и др., 2012), что было продемонстрированно и в наших экспериментах. Известно, что механизм восстановления кроветворения во многом связан с активацией процессов дифференцировки коммитированных предшественников после введения противоопухолевого антибиотика благодаря опережающему восстановлению в костном мозге числа гемопоэтических островков (Дыгай А.М. и др., 2009; 2012). Также в процессе регенерации гемопоэза играет важную роль стимуляция сопряжения стромальных механоцитов с кроветворными прекурсорами. Высокая пролиферативная активность последних связана с увеличением секреторной активности элементов гемопоэзиндуцирующего микроокружения в ранние сроки (Дыгай А.М. и др., 2012), что согласуется с полученными нами на животных-опухоленосителях результатами. Так, при оценке эритропоэтической активности в супернатантах клеток ГИМ показано, что на 3 сут после введения животным с LLC антибластомного препарата наблюдается усиление ЭПА неадгезирующей фракции в 6,3 раза ($P<0,01$) относительно показателя в группе мышей с опухолью. В сыворотке периферической крови, напротив, отмечено угнетение ЭПА под воздействием ДКС. При определении концентрации эритропоэтина в биологических жидкостях выявлено снижение значений данного показателя. Так, на 3 сут после введения цитостатика отмечено уменьшение уровня эритропоэтина в кондиционной среде костного мозга, полученной от адгезирующих элементов ГИМ, на 7 и 10 сут – в сыворотке периферической крови животных.

Оценка основных показателей эритропоэза в костном мозге мышей с опухолью показала, что на 3-5 сут после введения цитостатика наблюдалось снижение числа миелокариоцитов с последующим их увеличением до исходного уровня и повторным угнетением на 10 сут. Данные изменения были во многом обусловлены уменьшением количества эритробластов (5, 7 сут), базофильных и полихроматофильных нормобластов (3, 5, 7 сут). Депрессия костномозгового кроветворения сопровождалась соответствующими изменениями содержания зрелых эритроцитов в периферической крови животных с опухолью, получавших антибластомный препарат.

Таким образом, развитие анемии у мышей с LLC еще более усиливается после введения ДКС, в основном за счёт уменьшения количества коммитированных предшественников. Указанные изменения вызваны

уменьшением уровней гуморальных регуляторов эритропоэза в сыворотке крови и секретируемых клетками ГИМ и приводят к снижению числа морфологически распознаваемых клеток как в костном мозге, так и в периферической крови животных с опухолью (рисунок 7).

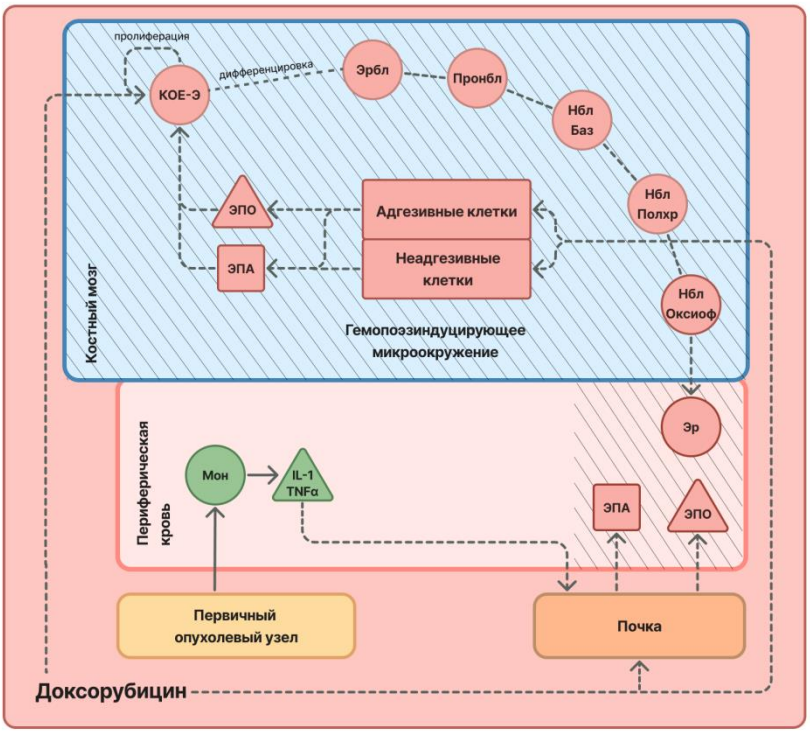


Рисунок 7 – Механизмы развития анемического синдрома, вызванного введением доксорубицина на фоне развития злокачественного новообразования (по собственным результатам и данным анализируемых литературных источников) (Nemeth E. et al., 2014; Куркина Н.В. и др., 2021).
Примечание: ЭПО – эритропоэтин; Мон – моноцит; IL-1 – интерлейкин – 1; TNFα – фактор некроза опухоли альфа; КОЕ-Э – предшественник эритроидного ряда; Эрбл – эритробласт; Пронбл – пронормобласт; НблБаз – базофильный нормобласт; НблПолхр – полихроматофильный нормобласт; НблОксиоф – оксиофильный нормобласт; Эр – зрелый эритроцит; красный фон – снижение; синий фон – увеличение; линии средней толщины – изменения на фоне развития опухоли практически отсутствуют; толстые – активация; пунктирные линии – ингибиция; область, отмеченная штриховкой – собственные результаты

В связи с этим, на наш взгляд, перспективной является разработка новых стимуляторов эритропоэза, фармакологическое действие которых связано с различными механизмами. Интересными в этом плане могут быть АСК из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa*, поэтому дальнейшим шагом явилось проведение экспериментов, направленных на изучение их эритропоэзстимулирующей активности.

В качестве препарата сравнения был выбран препарат рекомбинантного человеческого эритропоэтина (эпоэтин-β) – рекормон, который широко используется в клинической практике для увеличения числа эритроцитов, ретикулоцитов и уровня гемоглобина, а также скорости включения железа в

клетки. Известно, что этот препарат специфически стимулирует эритропоэз, не влияя на лейкопоэз (Cowper B. et al., 2020), что было продемонстрировано в наших экспериментах.

Выполненные исследования позволили обнаружить, что при комбинированном использовании растительных комплексов совместно с цитостатиком активируется регенерация эритроидного ростка кроветворения. Так, в костном мозге животных с LLC на фоне введения ДКС, наблюдалось увеличение количества миелокариоцитов: под действием АСК S-95 – на 3–10 сут, АСК А-95 – на 3–7 сут. Описанные изменения были связаны в основном с увеличением числа эритробластов, базофильных и полихроматофильных нормобластов в костном мозге мышей. При этом сравнительный анализ изучаемых растительных объектов продемонстрировал на 3 сут наблюдения более значительное повышение числа эритроидных клеток костного мозга под действием АСК S-95. Так, степень увеличения количества эритробластов и базофильных нормобластов в этот срок исследования в костном мозге мышей данной группы оказалась достоверно выше (в 2,4 и 1,2 раза) соответствующей у животных, получавших АСК А-95. Однако эти значения не превышали таковыt в группе референс-препарата. Напротив, на 5 сут было более выражено повышение числа эритроидных клеток в костном мозге под воздействием антоциансодержащего комплекса из *A. melanocarpa* по сравнению с группой АСК S-95. Стоит отметить, что данные значения, нормированные по контролю, превосходили таковые у мышей, получавших рекормон.

Закономерным следствием активации регенерации костномозгового кроветворения на фоне использования АСК S-95 и АСК А-95 явилось ускорение возрастания в динамике наблюдения количества эритроцитов (5, 10 сут и 5 сут соответственно) и ретикулоцитов (3–10 сут и 3–7 сут соответственно) в периферической крови животных с опухолью.

Сравнительная оценка изменений в динамике основных показателей эритропоэза в периферической крови показала, что на 3 сут после введения доксорубицина включение в химиотерапию АСК S-95 приводит к достоверному увеличению кратности стимуляции в 1,2 раза со стороны количества ретикулоцитов по сравнению с мышами в группе, получавшими препарат сравнения. На 5 сут значения нормированного показателя оставались выше таковых в группе животных, леченых как АСК А-95, так и рекормоном. По степени увеличения содержания эритроцитов в периферической крови изучаемые группы не различались.

Согласно полученным результатам, ускорение регенерации эритрона происходит за счёт повышения колониеобразующей способности костного мозга. Так, на протяжении всего эксперимента, начиная с 3 сут, курсовое назначение АСК S-95 на фоне введения ДКС вызывало достоверное увеличение выхода КОЕ-Э в 1,5 (3 сут); 2,3 (5 сут) и 3,5 (10 сут) раза относительно группы животных с LLC, получавших цитостатик. Отмечено, что на 10 сут значение данного показателя превосходило таковое у мышей, получавших рекормон. Включение в схему химиотерапии АСК А-95 оказало

стимулирующее действие на выход клеток–предшественников эритропоэза лишь на 5 (в 2,6 раза, $P<0,05$) и 7 сут (1,7 раза, $P<0,05$) после инъекции антибластомного препарата. Судя по увеличению индекса созревания (АСК S-95 – на 3, 10 сут, АСК А-95 – на 3, 5 сут), можно сделать вывод о том, что курсовое назначение АСК на фоне цитостатической терапии активирует дифференцировку коммитированных клеток эритроидного ряда.

При сравнительной оценке эффективности растительных комплексов и рефренс-препарата показано, что на 3 сут после использования цитостатика назначение АСК S-95 оказало более выраженное стимулирующее действие в отношении выхода КОЕ-Э относительно показателя в группе АСК А-95. Однако значения индекса стимуляции не достигали соответствующих значений в группе животных, получавших препарат сравнения.

Сравнительная оценка влияния антоциансодержащих комплексов и рекормона на дифференцировку эритроидных прекурсоров показала, что лишь добавление в схему химиотерапии АСК А-95 приводит к увеличению нормированных по контролю значений индекса созревания (3, 5 сут) относительно таковых в группах, получавших как АСК S-95, так и референс-препарат.

На основании полученных данных можно сделать заключение о целесообразности применения АСК из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* для коррекции нарушений в эритроне, вызванных ДКС в условиях опухолевого роста. Если эритропоэзстимулирующее действие рекормона проявляется лишь на ранние сроки после назначения цитостатика, то при применении растительных комплексов активация эритрона более продолжительна (с 3 до 7–10 сут). Также преимущество применения АСК перед рекормоном состоит в том, что растительные препараты не вызывают истощения пула эритроидных прекурсоров. Более того, наблюдается стимуляция колониеобразующей способности и дифференцировки эритроидных клеток-предшественников в костном мозге. Курсовое назначение АСК S-95 приводит к более выраженной стимуляции выхода КОЕ-Э на ранние сроки после введения доксорубицина, что вызывает повышение содержания эритроидных клеток как в костном мозге, так и периферической крови. Напротив, включение в схему химиотерапии АСК А-95 более эффективно влияет на дифференцировку прекурсоров эритроидного ряда в костном мозге в поздние сроки исследования.

Описанное эритропоэзстимулирующее действие антоциансодержащих комплексов может быть связано с активацией регуляторных систем, контролирующих эритропоэз. Одним из механизмов такой активации является прямое или опосредованное влияние гуморальных регуляторов кроветворения, продуцируемых элементами ГИМ, на эритроидные прекурсоры.

Для оценки участия локальных механизмов регуляции в стимуляции эритроидного ростка кроветворения растительными комплексами изучали их влияние на уровень ЭПА кондиционных сред клеток костного мозга у мышей с LLC на фоне введения ДКС. Известно, что ЭПА является интегративным

показателем, характеризующим наличие в супернатантах элементов ГИМ различных гуморальных факторов, обладающих эритропоэзстимулирующим действием (Дыгай А.М. и др., 2012). В ходе опыта показано, что на 3 и 5 сут после курсового назначения АСК усиливается продукция эритропоэтической активности неприлипающими клетками костного мозга по сравнению с группой монохимиотерапии. Отмечено, что на 3 сут данный показатель в группах, получавших растительные препараты, превосходит таковой у мышей с опухолью, получавших рекормон: в 6,2 раза ($P<0,05$) – АСК S-95; в 14,2 раза ($P<0,01$) – АСК А-95. При сравнительном анализе эффективности двух комплексов показано, что более выраженное действие в отношении продукции ЭПА клетками неприлипающей фракции отмечено при введении в схему химиотерапии АСК А-95.

На 3–5 сут отмечено повышение уровня ЭПА адгезирующих клеток костного мозга у мышей с LLC, получавших АСК S-95 на фоне цитостатической терапии. Показано, что на 7 сут после использования цитостатика комбинированное назначение АСК А-95 с ДКС также приводит к повышению данного показателя в 3,3 раза ($P<0,01$) относительно такового в группе мышей, получавших только антибластомный препарат.

Известно, что важнейшими элементами ГИМ являются макрофаги. Эти клетки иммунной системы подвижны, имеют выраженную способность к фагоцитозу, а также выполняют ряд уникальных функций, связанных с регуляцией процесса кроветворения (Sinder B.P. et al., 2015). Выделяют три основных популяции макрофагов костного мозга: центральные макрофаги внутри эритробластических островков (ЭО), нишевые макрофаги гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), основная функция которых заключается в поддержании ГСК, и остемаки – макрофаги, выстилающие кость, включая эндост (Поздина В.А. и др., 2021).

В контроле эритроидного ростка кроветворения одно из центральных мест занимают макрофаги ЭО, обеспечивающие созревание эритроидных клеток от эритробласта до ретикулоцита. Также эта популяция макрофагов экспрессирует молекулы адгезии сосудистых клеток – 1(VCAM-1), которые осуществляют сцепление эритробластов и макрофагов ЭО (Jacobsen et al., 2014). Описаны несколько функций макрофагов ЭО: секреция широкого спектра цитокинов и факторов роста, транспорт железа, фагоцитоз и кариолизис клеток-предшественников эритроцитов (Kawane K. et al., 2001; Toda S. et al., 2014; Zivot A. et al., 2018). В литературе встречаются противоречивые данные о возможности синтеза этими клетками эритропоэтина, который регулирует эритропоэз. Так, Поздиной В.А. и др. (2021) показана способность макрофагов секретировать данный белок. Borges M.D. et al. (2022) также продемонстрирована ведущая роль макрофагов в регуляции эритропоэза, которую авторы не связывают с синтезом эритропоэтина. Они показали, что эритропоэтическая активность обусловлена другими гуморальными факторами, секретируемыми макрофагами.

Для поиска ответа на этот вопрос нами была проведена оценка уровня эритропоэтина в адгезирующей фракции клеток костного мозга, содержащей преимущественно макрофаги ЭО. Иммуноферментный анализ их супернатантов показал, что на 7 сут после введения ДКС, под действием АСК А-95 наблюдается увеличение концентрации эритропоэтина. На 3 и 5 сут при включении АСК S-95 в схему химиотерапии отмечен аналогичный эффект.

С целью идентификации возможных мишеней для объектов исследования на элементах ГИМ был проведен молекулярный докинг. Для виртуального анализа в качестве лиганда выбрана молекула цианидина как наиболее распространенного соединения среди антоцианидинов (Avula B. et al., 2023). Белками-мишенями были выбраны рецепторы, участвующие в активации элементов ГИМ, в частности, макрофагов (TLR4, CCR2, IL-4Rα, PPAR-γ, EpoR, IFN-γR).

В ходе проведенного виртуального анализа, согласно показателю, описывающему надежность стыковки белка-рецептора с молекулой-лигандом (цианидин), выбранные рецепторы были разделены на три группы. В первую группу вошли рецепторы, обладающие умеренным связыванием с молекулой цианидина – IL-4Rα, PPAR-γ, IFNγR. Во вторую группу – рецептор CCR2, который показал надежное связывание с молекулой лигандом. Самой высокой аффинностью к цианидину обладает TLR4 (рисунки 8, 9, 10).

Согласно полученной модели, молекула цианидина образует водородную связь со следующими ключевыми аминокислотами, отвечающими за связывание лиганда и рецептора TLR4: His 456 (A), His 458 (A), His 456 (B), His 431 (B). При расчёте среднеквадратичного отклонения между положениями атомов лиганда в расчётной и экспериментальной структурах показано, что рецептор к эритропоэтину не связывается с изучаемым лигандом.

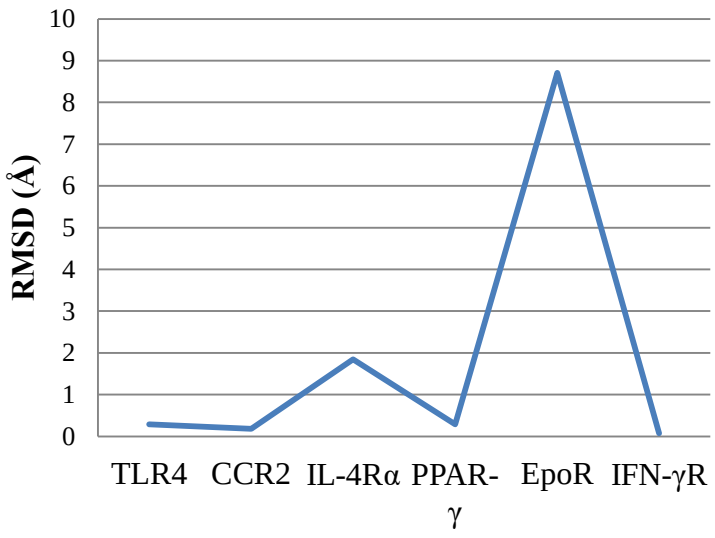


Рисунок 8 – Значения RMSD комплексов, сгенерированных Rosetta Ligand Docking

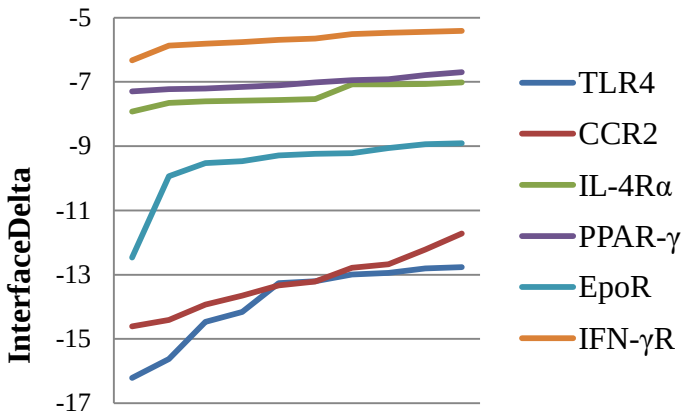


Рисунок 9 – Распределение значений InterfaceDelta для десяти стыковочных поз с наименьшими энергиями связывания

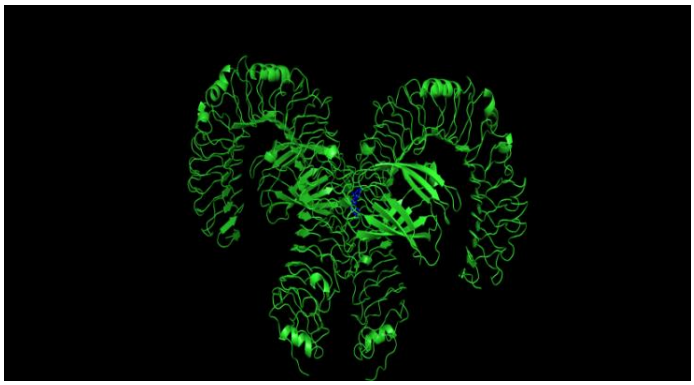


Рисунок 10 – Молекула цианидина, расположенная в сайте связывания TLR4

Таким образом, можно сделать вывод о том, что молекула цианидина может взаимодействовать с большей вероятностью с рецептором TLR4, и далее в порядке снижения CCR2>IL-4Rα>PPAR-γ>IFNγR.

Опираясь на данные определения ЭПА, иммуноферментного анализа и молекулярного докинга, можно выдвинуть предположение, что активация локального контроля эритропоэза под действием антоциансодержащих комплексов связана с прямым их взаимодействием с рецепторами макрофагов, что приводит к повышению продукции этими клетками эритропоэтина (рисунок 11).

Другой возможный вариант активации локального механизма регуляции эритроидного ростка кроветворения с помощью АСК может быть связан с координационной ролью макрофагов в настройке функционирования других элементов микроокружения (см. рисунок 11).

Известно, что помимо макрофагов в структуру ГИМ входят различные элементы: эндотелиальные клетки, фибробласты, адипоциты, остеобласты, лимфоциты, эозинофилы, базофилы и другие (Дыгай А.М. и др., 2012). Данные литературы свидетельствуют о том, что активированные антоцианами макрофаги синтезируют различные гуморальные факторы (Дыгай А.М. и др., 2012; Wang N. et al., 2024). С этим согласуются

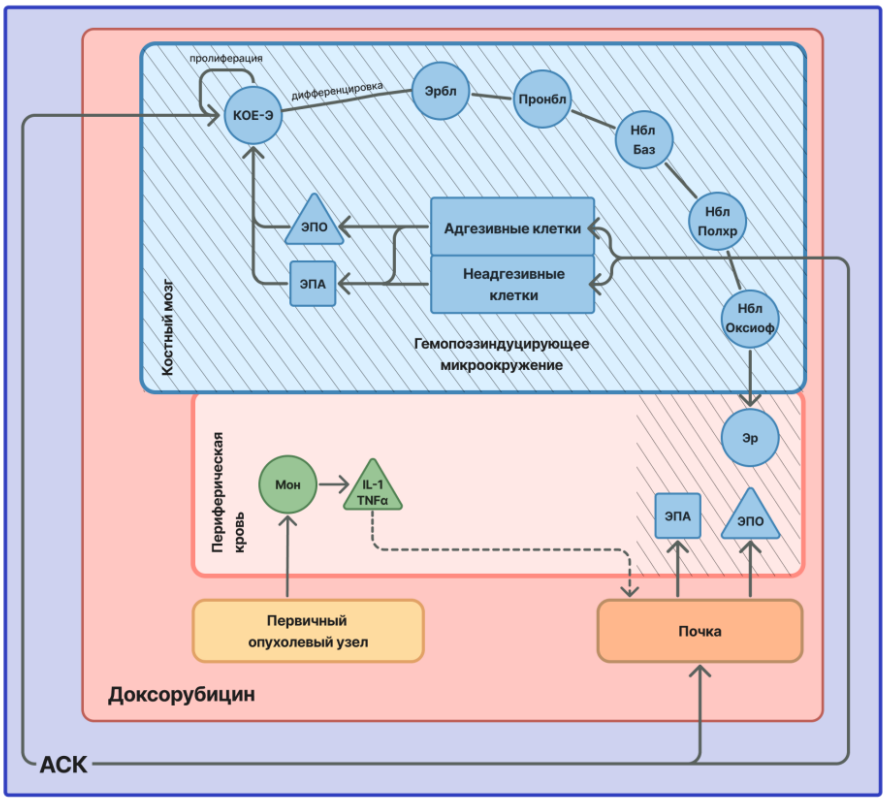


Рисунок 11 – Механизмы регенерации эритроидного ростка кроветворения с помощью антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* L. и *A. melanocarpa* (Michx.) Elliott, угнетенного введением доксорубицина, на фоне развития злокачественного новообразования (по собственным результатам и данным анализируемых литературных источников) (Nemeth E. et al., 2014; Куркина Н.В. и др., 2021).
Примечание: ЭПО – эритропоэтин; Мон – моноцит; IL-1 – интерлейкин – 1; TNFα – фактор некроза опухоли альфа; КОЕ-Э – предшественник эритроидного ряда; Эрбл – эритробласт; Пронбл – пронормобласт; НблБаз – базофильный нормобласт; НблПолхр – полихроматофильный нормобласт; НблОксиоф – оксиофильный нормобласт; Эр – зрелый эритроцит; красный фон – снижение; синий фон – увеличение; линии средней толщины – изменения на фоне развития опухоли практически отсутствуют; толстые – активация; пунктирные линии – ингибиция; область, отмеченная штриховкой – собственные результаты

результаты наших экспериментов по оценке ЭПА кондиционных сред клеток костного мозга у мышей с LLC. На 3, 5 сут после введения цитостатика включение АСК S-95 в схему химиотерапии привело к усилению продукции ЭПА неадгезирующими клетками костного мозга в 2,5 и 1,8 раза ($P<0,05$) относительно показателя в группе мышей, получавших ДКС. На 3 сут отмечена стимуляция синтеза ЭПА адгезирующими элементами костного мозга у мышей, получавших АСК S-95 совместно с ДКС. На 3 и 5 сут после инъекции цитостатика совместно с АСК А-96 усиливается продукция ЭПА неадгезирующими клетками костного мозга в 5,7 и 1,9 раза ($P<0,01$) соответственно по сравнению с группой монохимиотерапии. На 3 сут данный

показатель в группе, получавшей АСК А-95, превосходил таковой у мышей с LLC, которым вводили рекормон. На 7 сут также отмечена стимуляция продукции ЭПА адгезирующими клетками костного мозга у мышей с LLC, получавших АСК А-95 совместно с ДКС.

Кроме того фибробласты, входящие в ГИМ, также экспрессируют на своей поверхности рецепторы TLR4 (Zhu L. et al., 2024), IL-4Rα (Alice L. et al., 2017), PPAR-γ (Li X.F., 2017). На мембране адипоцитов расположены TLR4 (McKernan K. et al., 2020), IL-4Rα (Damen M.S.M.A. et al., 2021), PPAR-γ (Lefterova M.I. et al., 2014), IFN-γR (Bispo E.C.I. et al., 2024). Многими авторами при фенотипировании Т-лимфоцитов выявлено наличие на поверхности этих клеток следующих рецепторов: CCR2 (Fei L. et al., 2021), IL-4Rα (Scibiorek M. et al., 2023), PPAR-γ (Peesari S. et al., 2024), IFN-γR (Lu C. et al., 2023). Следовательно, еще одним возможным механизмом локального контроля регуляции эритропоэза может быть прямое взаимодействие антоцианов с белковыми рецепторами, экспрессирующимися на поверхности элементов микроокружения, например, фибробластов, Т-лимфоцитов, адипоцитов, что приводит к увеличению продукции эритропоэзстимулириующих факторов этими клетками, входящими в ГИМ (см. рисунок 11).

Для подтверждения нашей гипотезы был поставлен эксперимент *in vitro*, где показано, что активация функционирования клеток гемопоэзиндуцирующего микроокружения связана с прямым действием АСК из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* на эти элементы. Следует отметить, что повышение уровней ЭПА как в адгезирущей, так и неадгезирующей кондиционной среде наблюдается под воздействием изучаемых растительных комплексов в высоких концентрациях (150 и 300 мкг/мл). Лишь добавление АСК А-95 в концентрации 30 мкг/мл приводит к увеличению продукции ЭПА элементами прилипающей фракции (таблица 5).

В целом результаты представленных исследований свидетельствуют о том, что в стимуляцию функционирования эритроидных клеток-предшественников АСК из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* вовлечены несколько ключевых механизмов локального контроля. Указанные механизмы активируются под действием АСК S-95 в большей степени на ранних сроках развития анемии, а при назначении АСК А-95 – в более поздние сроки исследования.

При изучении роли гуморальных регуляторов в дистантном контроле эритропоэза установлено, что во все сроки эксперимента комбинированное использование АСК с ДКС приводит к повышению уровня ЭПА сыворотки периферической крови животных с опухолью. Необходимо отметить, что на 7 сут данный показатель в группе комбинированного использования цитостатика с АСК А-95 достоверно превосходит таковое в группе с включением в схему химиотерапии референс-препарата рекормона.

Таблица 5 – Влияние антоциансодержащих комплексов из *Sorbus aucuparia* L. (АСК S-95), *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott (АСК А-95) *in vitro* на уровень эритропоэтической активности кондиционных сред клеток костного мозга в культуре миелокариоцитов интактных мышей-самок линии С57Bl/6 (M±SD)

Группа наблюдений, концентрация (количество лунок)	Адгезирующие клетки	Неадгезирующие клетки
1. Интактный контроль (5)	1,31±0,34	0,31±0,10
2. АСК А-95, 30 мкг/мл (5)	2,12±0,71 1–2 P<0,01	0,63±0,09
3. АСК А-95, 150 мкг/мл (5)	2,34±0,61 1–3 P<0,01	2,51±0,78 1–3 P<0,01
4. АСК А-95, 300 мкг/мл (5)	2,54±0,42 1–4 P<0,01	1,41±0,61 1–4 P<0,01
5. АСК S-95, 30 мкг/мл (5)	1,42±0,80	0,42±0,15
6. АСК S-95, 150 мкг/мл (5)	1,91±0,40 1–6 P<0,01	2,10±0,86 1–6 P<0,01
7. АСК S-95, 300 мкг/мл (5)	2,06±0,35 1–7 P<0,01	2,15±0,71 1–7 P<0,01

Определение методом иммуноферментного анализа концентрации эритропоэтина в сыворотке крови показало, что использование растительных комплексов совместно с антибластомным препаратом приводит на 7 и 10 сут к увеличению данного показателя относительно такового в группе монохимиотерапии. Также следует отметить, что только при включении в схему химиотерапии АСК S-95 наблюдалось увеличение концентрации белка относительно показателя в группе животных, получавших рекормон. Напротив, уровень эритропоэтина после курсового назначения АСК А-95 оказался достоверно ниже (в 1,7 раза) значения в группе, получавших референс-препарат.

Таким образом, дистантный механизм регуляции эритроидного ростка кроветворения активируется под действием антоциансодержащих комплексов за счёт их влияния на продукцию гуморальных факторов, действующих на эритропоэз, в частности, эритропоэтина (см. рисунок 11). Поскольку эта продукция осуществляется преимущественно фибробластами интерстициальных клеток почек, можно предположить прямое взаимодействие цианидина с рецепторами (TLR4, IL-4Rα, PPAR-γ) этих клеток. Наиболее выраженная стимуляция дистантного механизма наблюдается при комбинированном использовании АСК S-95 совместно с доксорубицином.

Другим механизмом эритропоэзстимулирующего действия АСК из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* является прямое действие на клетки-предшественники эритропоэза – КОЕ-Э. Доказательства этого получены в эксперименте *in vitro*. Так, добавление в культуру неприлипающих миелокариоцитов интактных мышей растительных комплексов в

концентрациях 30, 150 и 300 мкг/мл приводит к увеличению числа эритроидных колониеобразующих единиц по сравнению с контролем. Известно, что на поверхности КОЕ-Э находятся лишь рецепторы к эритропоэтину (EpoR) (Zivot A. et al., 2017). Согласно данным молекулярного докинга, антоцианы могут взаимодействовать с данным рецептором, однако их сродство незначительно (таблица 6).

Помимо описанных механизмов стимуляции эритропоэза важную роль в восстановлении эритроидного ростка кроветворения, подавленного цитостатическими препаратами, может играть защита генетического материала в миелокариоцитах, при этом большую часть пролиферативного пула в костном мозге составляют эритроидные клетки (Назаров К.В. и др., 2022). В нашем исследовании были поставлены эксперименты, посвященные изучению влияния АСК из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* на индуцированную ДКС генотоксичность в костном мозге животных как с LLC, так и без опухоли.

Хорошо известна способность некоторых природных средств демонстрировать цитогенетические эффекты в высоких дозах. Так, обнаружены генотоксические свойства у некоторых флавоноидов (кверцетин, генистеин) *in vitro* и *in vivo* (Дурнев А.Д. и др., 2022). С целью оценки генотоксических свойств изучаемых растительных комплексов в наш эксперимент были включены группы животных, которым их вводили изолированно. Показано, что АСК S-95 и АСК А-95 не оказывают влияния на цитогенетические показатели клеток костного мозга животных без опухоли после одно-, двух- и десятикратного введения.

Таблица 6 – Влияние антоциансодержащих комплексов из *Sorbus aucuparia* L. (АСК S-95), *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott (АСК А-95) *in vitro* на содержания кроветворных клеток-предшественников эритропоэза (КлОЕ-Э, КОЕ-Э) (х 10^5 клеток) в культуре неприлипающих миелокариоцитов интактных мышей-самок линии С57Bl/6 (M±SD)

Группа наблюдений, концентрация (количество лунок)	КлОЕ-Э	КОЕ-Э
1. Интактный контроль (5)	35,12±1,00	4,25±0,20
2. АСК А-95, 30 мкг/мл (5)	42,10±9,15	8,00±1,25 1–2 P<0,01
3. АСК А-95, 150 мкг/мл (5)	50,75±4,21 1–3 P<0,01	10,21±0,80 1–3 P<0,01
4. АСК А-95, 300 мкг/мл (5)	67,21±1,20 1–3 P<0,01	13,25±0,63 1–3 P<0,01
5. АСК S-95, 30 мкг/мл (5)	31,00±4,70	10,75±0,85 1–5 P<0,05
6. АСК S-95, 150 мкг/мл (5)	32,10±1,32	9,81±0,87 1–6 P<0,01
7. АСК S-95, 300 мкг/мл (5)	42,12±1,23 1–7 P<0,01	8,42±0,71 1–6 P<0,01

Напротив, через 24 ч после введения ДКС в дозе 6 мг/кг в костном мозге обнаружено увеличение числа клеток с хромосомными повреждениями по сравнению с соответствующим показателем у животных интактной группы. Среди нарушений преобладали одиночные фрагменты и пробелы. Кроме того, присутствовали единичные парные фрагменты. Через 48 ч и 10 сут наблюдения генотоксический эффект цитостатика сохранился.

Аналогичные результаты получены при изучении токсического действия ДКС на ДНК клеток костного мозга методом ДНК-комет. Так, через 24, 48 ч и 10 сут после введения противоопухолевого препарата выявлено достоверное увеличение процента ДНК в хвосте в 4,9; 6,3 и 3,0 раза соответственно.

Полученные результаты согласуются с данными литературы. Показано, что ДКС способен вызвать нарушения в структуре ДНК посредством ингибиции топоизомеразы II, а также активации окислительного стресса (Lu Y. et al., 2013). По классификации Международного агентства по изучению рака, доксорубицин относится к веществам, канцерогенность которых для человека является вероятной.

Основными критериями эффективности перспективных генопротекторных средств являются уменьшение доли метафазных пластинок с аберрантными нарушениями, а также процента ДНК в хвосте комет (Дурнев А.Д. и др., 2022). В проведенных экспериментах показано, что включение в схему химиотерапии растительных комплексов приводит к ослаблению генотоксического действия доксорубицина. Полученный эффект выявлялся через 24 ч после использования цитостатика и сохранялся в течение всего эксперимента. При сравнительном анализе АСК из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* установлено, что наиболее выраженным генопротекторным действием обладает АСК S-95.

В литературе встречаются сведения о том, что одной из причин развития злокачественных новообразований является поражение генетического материала нормальных клеток. Однако остается открытым вопрос о возможности генотоксического действия самой опухоли на здоровые клетки.

Цитогенетическая оценка метафазных пластинок у мышей с LLC показала, что развитие опухоли оказывает токсическое действие на геном клеток костного мозга. Так, на 11 сут эксперимента наблюдалось увеличение количества аберрантных хромосом и процента клеток с хромосомными повреждениями в 1,3 раза ($P<0,05$) относительно показателей у животных без опухоли (рисунок 12,б). На 21 сут после трансплантации опухоли количество хромосомных аномалий и частота встречаемости клеток с аберрациями повышалась в 1,7 раза. Аналогичные результаты были получены при оценке влияния опухоли на процент ДНК в хвосте кометы (рисунок 13,б).

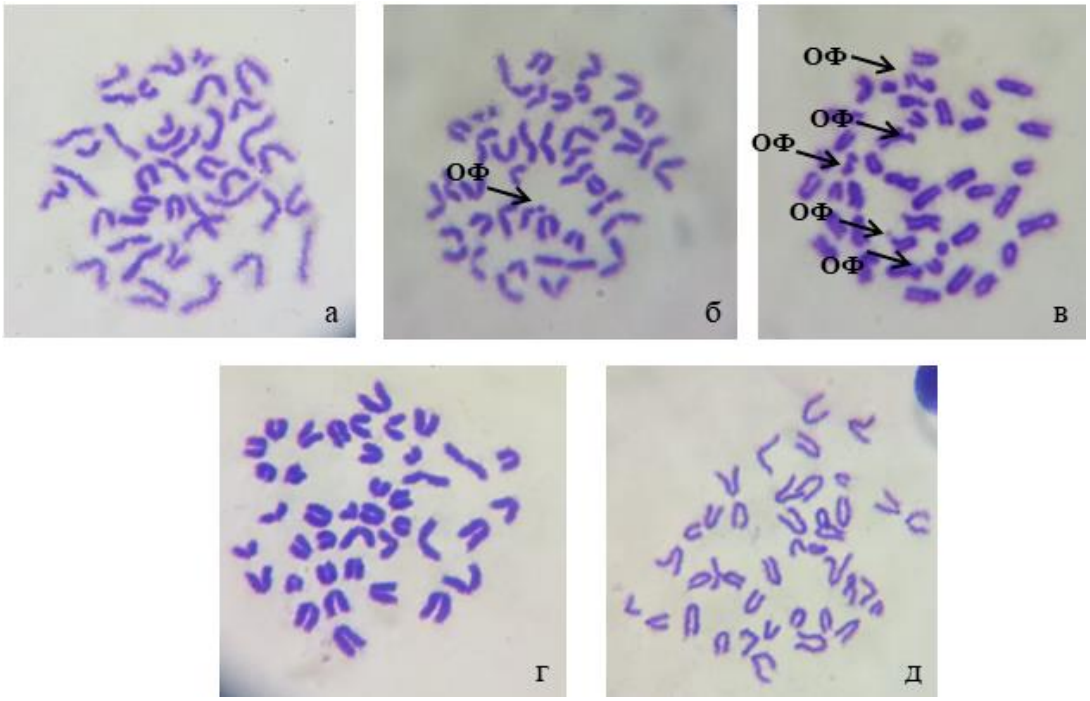


Рисунок 12 – Фотографии метафазных пластинок костного мозга мышей-самок линии C57Bl/6 (а) с карциномой легких Льюис (б) через 24 ч (11 сут эксперимента) после однократного введения доксорубицина (в) и антоциансодержащих комплексов из плодов *Sorbus aucuparia* L. (*г*) и *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott (д).
Примечание: Стрелками указаны структурные нарушения хромосом (ОФ – одиночный фрагмент). Окраска азур-эозином, иммерсионный объектив х100

Наблюдаемый факт может быть связан с тем, что развитие злокачественных новообразований сопровождается окислительным стрессом с интенсивной продукцией активных форм кислорода, обладающих генотоксическим действием (Nourazarian A.R. et al., 2014).

Уровень повреждения хромосом ожидаемо повышался после однократного введения мышам с LLC ДКС. Генотоксическое действие противоопухолевого агента на фоне развития опухоли было отмечено через 24 ч (см. рисунки 12,в, 13,в) и сохранилось к 10 сут после его использования.

Включение в схему химиотерапии АСК S-95 спустя 24 ч после применения ДКС привело к снижению уровня ДНК-повреждений у мышей с опухолью: даже после однократного введения растительного комплекса достоверно уменьшилось количество одиночных фрагментов и пробелов хромосом в 1,8 и 4,1 раза соответственно.

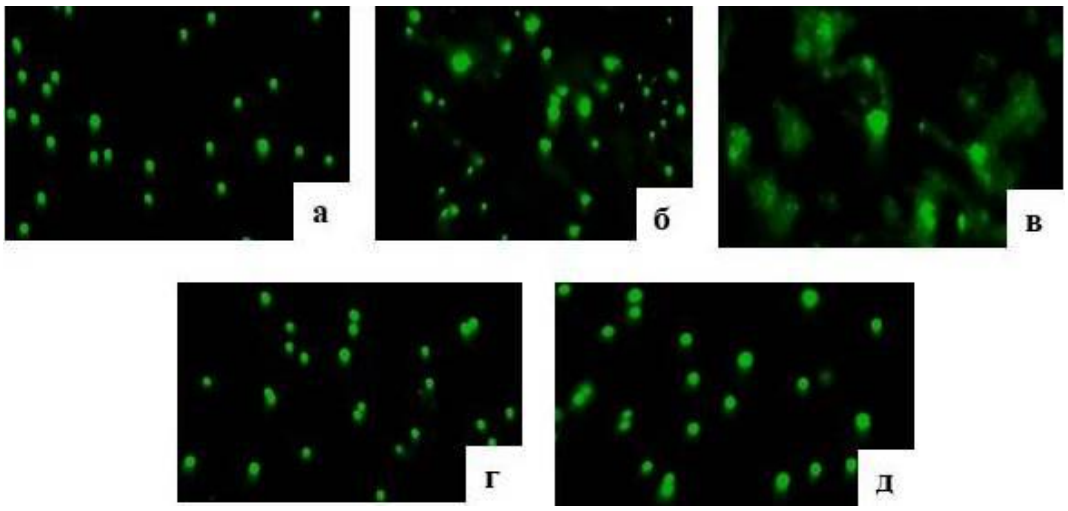


Рисунок 13 – Фотографии ДНК-комет костного мозга мышей-самок линии С57Bl/6 (а) с карциномой легких Льюис (б) через 24 ч (11 сут эксперимента) после однократного введения доксорубицина, (в) антоциансодержащих комплексов из плодов *Sorbus aucuparia* L. (г) и *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott (д). Примечание: щелочной гель-электрофорез. Окраска SYBR Greem I, увеличение х 200

Наблюдалось снижение количества аберрантных хромосом и уменьшение доли клеток с хромосомными повреждениями, а также процента ДНК в хвосте кометы по сравнению с показателями в группе мышей, получавших только ДКС (см. рисунки 12,г, 13,г).

Комбинированное использование АСК А-95 совместно с ДКС также оказало генопротекторное действие, однако обнаруженный в ранние сроки наблюдения корректорный эффект в этой группе был менее выражен, чем у животных, принимавших АСК S-95 на фоне цитостатической терапии (см. рисунки 12,д, 13,д).

Известна важная роль окислительного стресса в патогенезе многих заболеваний, в частности, злокачественных новообразований (De S. et al., 2020; Wu R. et al., 2020). Основу феномена окислительного стресса, который является одним из патогенетических звеньев мутагенеза, составляет гиперпродукция свободных радикалов (Новиков В.Е. и др., 2014). Система антиоксидантной защиты является основным фактором, который защищает клетки от избыточного содержания активных форм кислорода (Гаврилова О.А., 2017). Яркими природными антиоксидантами из группы полифенолов являются антоцианы, которые по своей активности не уступают известным антиоксидантам, таким как α-токоферол, тролокс и катехин (Yudina R.S. et al., 2021). Таким образом, антиоксидантные свойства антоцианов, по всей вероятности, лежат в основе как их способности повышать эффективность химиотерапии, так и генопротекторного действия, с которым, в свою очередь, связан эритропоэзстимулирующий эффект.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование по изучению влияния антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa*, приготовленных на 95%

этаноле, на развитие перевиваемых опухолей животных и эффективность цитостатического лечения показало перспективность их использования как для торможения роста опухоли и метастазов, так и для повышения эффективности химиотерапии.

Помимо ингибирующего действия растительных комплексов на развитие перевиваемых опухолей, показана их способность активировать восстановление преимущественно эритроидного ростка кроветворения, угнетенного противоопухолевыми препаратами. Данный эффект антоцианов связан с активацией как локальных, так и дистантных механизмов гуморальной регуляции эритропоэза. Также показано прямое стимулирующее действие антоциансодержащих комплексов на эритроидные клетки-предшественники.

Кроме описанных механизмов стимуляции регенерации подавленного цитостатическими препаратами эритропоэза с помощью растительных комплексов важную роль в восстановлении эритроидного ростка кроветворения играет их генопротекторное действие в отношении ядросодержащих клеток в костном мозге.

Учитывая наличие большой сырьевой базы для получения антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa и* низкую себестоимость производства, полученные в работе данные могут служить основанием для создания на их основе препаратов, повышающих эффективность противоопухолевой терапии и обладающих эритропоэзстимулирующим действием.

ВЫВОДЫ

1. Антоциансодержащий комплекс из плодов *Sorbus aucuparia* L., приготовленный на 95% этаноле, в большей степени повышает эффективность и снижает токсичность цитостатической химиотерапии, чем приготовленный на 40% этаноле.

2. Изолированное назначение антоциансодержащих комплексов из плодов *Sorbus aucuparia* L. и *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott приводит к торможению роста первичного опухолевого узла у животных с меланомой B-16 и карциномой лёгких Льюис, а также процесса метастазирования – у мышей с карциномой лёгких Льюис и раком лёгкого-67.

3. Включение в схему химиотерапии антоциансодержащего комплекса из плодов *Sorbus aucuparia* L. повышает противометастатическую активность циклофосфана и снижает его гематологическую токсичность у животных с перевиваемыми опухолями (карцинома лёгких Льюис, рак лёгкого-67, меланома B-16). Добавление в схему химиотерапии антоциансодержащего комплекса из плодов *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott приводит к повышению эффективности алкилирующего агента у мышей с карциномой лёгких Льюис и раком лёгкого-67.

4. Курсовое назначение антоциансодержащего комплекса из плодов *Sorbus aucuparia* L. повышает противометастатическую активность доксорубицина у животных с карциномой лёгких Льюис. Совместное использование антоциансодержащего комплекса из плодов *Aronia*

melanocarpa (Michx.) Elliott с доксорубицином не изменяет эффективность противоопухолевой терапии.

5. Антоциансодержащие комплексы из плодов *Sorbus aucuparia* L. и *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott на фоне развития анемии, индуцированной однократным введением доксорубицина, ускоряют восстановление эритроидного ростка кроветворения у интактных животных, а также мышей с карциномой лёгких Льюис. Более продолжительный и выраженный эритропоэзстимулирующий эффект наблюдается при включении в схему химиотерапии антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott.

6. Комбинирование использование антоциансодержащего комплекса из плодов *Sorbus aucuparia L.* с доксорубицином стимулирует колониеобразование из эритроидных клеток костного мозга мышей с карциномой лёгких Льюис преимущественно в ранние сроки.

7. Включение антоциансодержащего комплекса из плодов *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott в схему химиотерапии у мышей с карциномой лёгких Льюис приводит к более интенсивной дифференцировке прекурсоров эритроидного ряда в костном мозге на поздних этапах наблюдения.

8. При курсовом введении антоциансодержащих комплексов из плодов *Sorbus aucuparia L.* и *Aronia melanocarpa (Michx.) Elliott* в условиях цитостатической миелосупрессии повышается уровень эритропоэтической активности кондиционных сред клеток костного мозга в основном за счёт увеличения концентрации эритропоэтина в адгезивной фракции у мышей с карциномой лёгких Льюис, что свидетельствует об активации локальных механизмов регуляции эритропоэза. Указанные гуморальные механизмы активируются под действием антоциансодержащего комплекса из плодов *Sorbus aucuparia L.* в большей степени на ранних сроках, а из плодов *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott – в более поздние сроки исследования.

9. Назначение антоциансодержащих комплексов из плодов *Sorbus aucuparia L.* и *Aronia melanocarpa (Michx.) Elliott* на фоне цитостатической миелосупрессии приводит к повышению концентрации эритропоэтина в сыворотке крови мышей с опухолью и увеличивает уровень эритропоэтической активности (в большей степени под действием АСК из *Sorbus aucuparia L.*), что свидетельствует об активации дистантного механизма регенерации эритроидного ростка кроветворения, угнетенного доксорубицином, на фоне развития злокачественных новообразований.

10. Культивирование неадгезирующих клеток костного мозга интактных животных с антоциансодержащими комплексами из плодов *Sorbus aucuparia L.* и *Aronia melanocarpa (Michx.) Elliott* в концентрациях 30, 150 и 300 мкг/мл приводит к повышению как числа эритроидных колониеобразующих единиц в культуре, так и уровня эритропоэтической активности культуральной среды.

11. Антоциансодержащие комплексы из плодов *Sorbus aucuparia L.* и *Aronia melanocárpa (Michx.) Elliott* обладают генопротекторным действием на

клетки костного мозга животных с карциномой лёгких Льюис на фоне цитостатической терапии.

Статьи, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России

1. Противоопухолевые эффекты оригинального высоконасыщенного антоцианами экстракта рябины обыкновенной и механизмы их развития / Т.Г. Разина, Е.П. Зуева, А.В. Ульрих, **О.Ю. Рыбалкина**, А.В. Чайковский, Н.В. Исайкина, Г.И. Калинкина, В.В. Жданов, Г.Н. Зюзьков // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2016. – Т. 162, № 7. – С. 107–112.

2. Плоды рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.) как источник средства для повышения эффективности химиотерапии опухолей / Н.В. Исайкина, Г.И. Калинкина, Т.Г. Разина, Е.П. Зуева, **О.Ю. Рыбалкина**, А.В. Ульрих, Е.П. Федорова, А.Б. Шилова // Химия растительного сырья. – 2017. – № 4. – С. 165–173. DOI: https://doi.org/10.14258/jcprm.2017041839.

3. Эритропоэзстимулирующие свойства антоциансодержащих комплексов при цитостатическом анемическом синдроме / **О.Ю. Рыбалкина**, Е.П. Федорова, А.В. Чайковский, Т.Г. Разина, Г.И. Калинкина, Н.В. Исайкина, Е.А. Киселева, Г.Н. Зюзьков, Е.П. Зуева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2020. – Т. 170, № 12. – С. 759–763.

4. Разработка средства на основе плодов аронии черноплодной (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott), повышающего эффективность химиотерапии опухолей / В.Ю. Андреева, В.В. Шейкин, Г.И. Калинкина, Т.Г. Разина, Е.П. Зуева, **О.Ю**. **Рыбалкина**, А.В. Ульрих // Химия растительного сырья. – 2020. – № 4. – С.219-226. DOI: 10.14258/jcprm.2020046339.

5. *Aronia melanoca*рра и *Sorbus aucuparia* (Rosaceae) как перспективные источники получения антоциансодержащих комплексов для дополнительной терапии перевиваемых опухолей / **О.Ю. Рыбалкина**, Т.Г. Разина, Е.А. Сафонова, Е.А. Киселева, А.В. Ульрих, В.Ю. Андреева, Н.В. Исайкина, Г.И. Калинкина, Е.П. Зуева // Растительные ресурсы. – 2021. – Т. 57, № 2. – С. 186–192. DOI: 10.31857/S0033994621020072.

6. Перспективы использования *Aronia melanocarpa* (Rosaceae) в онкологической практике // **О.Ю. Рыбалкина**, Т.Г. Разина, Е.П. Зуева, В.Ю. Андреева, Г.Н. Зюзьков, Г.И. Калинкина, В.В. Жданов // Растительные ресурсы. – 2022. – Т. 58, № 3. – С.222–235. DOI: 10.31857/S0033994622030098.

7. Эритропоэзстимулирующие свойства антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. при цитостатическом анемическом синдроме у мышей с карциномой лёгких Льюис / **О.Ю. Рыбалкина**, Е.П. Федорова, А.В. Чайковский, Т.Г. Разина, Г.И. Калинкина, Н.В. Исайкина, Е.А. Киселева, Е.П. Зуева, В.В. Жданов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2022. – Т. 173, № 2. – С. 171–176.

8. Оценка эффективности использования фенолсодержащих комплексов из различных частей рябины обыкновенной (S*orbus aucuparia* L.) в онкологическом эксперименте / **О.Ю. Рыбалкина**, Т.Г. Разина, Е.А. Киселева, Г.И. Калинкина, Н.В. Исайкина, Е.П. Зуева, В.В. Жданов // Биомедицина. –2022. – Т. 18, № 4. – С. 74–85. DOI: https://doi.org/10.33647/2074-5982-18-4-74-85.

9. Снижение генотоксических эффектов доксорубицина антоциансодержащим комплексом из плодов *Sorbus aucuparia* L. / **О.Ю. Рыбалкина**, О.В. Неупокоева, О.Л. Воронова, Т.Г. Разина, Г.И. Калинкина, Н.В. Исайкина, Е.А. Киселева, А.А. Чурин, Е.П. Зуева, В.В. Жданов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2023. – Т. 175, № 1. – С.59-64. DOI: 10.47056/0365-9615-2023-175-1-59-64.

10. Препараты из *Sorbus aucuparia* (Rosaceae) в экспериментальной терапии злокачественных новообразований: открывающиеся возможности / **О.Ю. Рыбалкина**, Т.Г. Разина, Е.П. Зуева, Е.Н. Амосова, Г.И. Калинкина, М.Ю. Минакова, В.В. Жданов // Растительные ресурсы. – 2023. – Т. 59, вып. 3. – С. 217–227. DOI: 10.31857/S0033994623030111.

11. Генопротекторная активность антоциансодержащего комплекса *Aronia melanocarpa* / **О.Ю. Рыбалкина**, О.В. Неупокоева, О.Л. Воронова, Т.Г. Разина, Г.И. Калинкина, В.Ю. Андреева, Е.А. Киселева, А.А. Чурин, Е.П. Зуева, В.В. Жданов // Биомедицина. – 2023. – Т. 19, № 4. – С. 70–80. DOI: https://doi.org/10.33647/2074-5982-19-4-70-80.

12. Эритропоэзстимулирующее действие антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott при экспериментальной цитостатической терапии / **О.Ю. Рыбалкина**, Е.П. Федорова, А.В. Чайковский, Н.С. Селиванова, Т.Г. Разина, Г.И. Калинкина, В.Ю. Андреева, О.В. Воронкова, Е.П. Зуева, М.В. Белоусов, В.В. Жданов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2025. – Т. 179, № 5. – С. 582–588. DOI : 10.47056/0365-9615-2025-179-5-582-588.

Патенты на изобретение и база данных

1. **Патент № 2578457 Российская Федерация, МПК A61K A61P.** Средство, обладающее противоопухолевой и антиметастатической активностью, повышающее противометастатическое действие циклофосфана : № 2015103700/15 : заявл. 04.02.2015 : опубл. 27.03.2016 : бюл. № 9 / Разина Т.Г., Зуева Е.П., Калинкина Г.И., Исайкина Н.В., Андреева В.Ю., **Рыбалкина О.Ю.**, Крылова С.Г., Амосова Е.Н., Лопатина К.А., Сафонова Е.А., Галиулина А.В. ; патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга» (RU).

2. **Патент № 2634572 Российская Федерация, МПК A61K A61K A61P.** Средство для коррекции нарушений в эритроидном ростке кроветворения, вызванных цитостатическим воздействием : № 2016142432 : заявл. 27.10.2016 : опубл. 31.10.2017 : бюл. № 31 / **Рыбалкина О.Ю.**, Федорова Е.П., Зуева Е.П., Разина Т.Г., Калинкина Г.И., Исайкина Н.В., Ульрих А.В. ;

патентообладатели: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (Томский НИМЦ) (RU), Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России) (RU).

3. **Патент 2657602 Российская Федерация, МПК A61K A61K B01D A61P.** Средство, обладающее антиметастатической активностью и повышающее противометастатическое действие циклофосфана : № 2016148121 : заявл. 07.12.2016 : опубл. 14.06.2018 : бюл. № 17 / Разина Т.Г., Зуева Е.П., Калинкина Г.И., Андреева В.Ю., **Рыбалкина О.Ю.**, Ульрих А.В., Исайкина Н.В. ; патентообладатели: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (Томский НИМЦ), Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России) (RU).

4. **Патент 2657814 Российская Федерация, МПК A61K A61K B01D A61P.** Антиметастатическое средство : № 2017121446 : заявл. 19.06.2017 : опубл. 15.06.2018 : бюл. № 17 / Разина Т.Г., Зуева Е.П., Калинкина Г.И., Исайкина Н.В., **Рыбалкина О.Ю.**, Сафонова Е.А., Ульрих А.В., Хамитова В.Р. : патентообладатели: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России) (RU), Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (Томский НИМЦ) (RU).

5. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2025625612. База данных морфометрических показателей развития перевиваемых опухолей у мышей линии C57Bl/6 : № 2025625258 : заявл. от 17.11.2025 : опубл. 01.12.2025 : бюл. № 12 / Ан Л.А., **Рыбалкина О.Ю.**, Крылова С.Г., Зуева Е.П. Правообладатель: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (RU).

Материалы конференций

1. Влияние экстракта плодов *Sorbus aucuparia* L. на развитие доксорубицин-индуцированного анемического синдрома / **О.Ю. Рыбалкина**, Е.П. Федорова, А.В. Чайковский, Т.Г. Разина, А.В. Ульрих, К.М. Кириленко, Е.П. Зуева, Г.И. Калинкина // Современная лекарственная токсикология: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы II Всероссийской научной конференции (Томск, 13–15 июня 2017 г.). – Томск, 2017. – С. 26, 27.

2. Антиметастатические эффекты антоциансодержащего экстракта плодов *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot / Т.Г. Разина, Е.П. Зуева, **О.Ю. Рыбалкина**, А.В. Ульрих, В.Ю. Андреева, Г.И. Калинкина // Современная лекарственная токсикология: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы II Всероссийской научной конференции (Томск, 13–15 июня 2017 г.). – Томск, 2017. – С. 26.

3. Хамитова, В.Р. Возможность комплексного использования рябины обыкновенной / В.Р. Хамитова, **О.Ю. Рыбалкина** // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической фармакологии: материалы конференции молодых ученых. – Томск: Изд-во «Печатная мануфактура», 2017. – С. 35–38.

4. Кириленко, К.М. Род *Sorbus* как источник для разработки нового средства коррекции нарушений в эритроидном ростке кроветворения в результате цитостатического воздействия / К.М. Кириленко, **О.Ю. Рыбалкина**, Е.П. Фёдорова // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической фармакологии: материалы конференции молодых ученых. – Томск: Изд-во «Печатная мануфактура», 2017. – С. 11–13.

5. Кириленко, К.М. Влияние экстракта плодов аронии черноплодной (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) на эритроидный росток кроветворения в условиях цитостатического воздействия / К.М. Кириленко, **О.Ю. Рыбалкина** // Перспективы развития фундаментальных наук: сборник научных трудов XV Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. В 7-ми томах / под ред. И.А. Курзиной, Г.А. Вороновой. – Томск, 2018. – С. 78–80.

6. Кириленко, К.М. Изучение экстракта плодов рябины черноплодной (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott) на развитие доксорубицин-индуцированного анемического синдрома / К.М. Кириленко, Е.П. Федорова, **О.Ю. Рыбалкина** // Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины: сборник материалов конгресса молодых ученых (Томск, 24–25 мая 2018 г.). – Томск, 2018. – С. 467–469.

7. Влияние экстракта плодов рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.) на развитие доксорубицин-индуцированного анемического синдрома / **О.Ю. Рыбалкина**, К.М. Кириленко, Е.П. Федорова, Т.Г. Разина, Н.В. Исайкина, Е.П. Зуева // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: материалы конференции IT+M&Ec'2018 (Крым, Ялта-Гурзуф, 2018 г.). – Крым, 2018. – С. 143–146.

8. Рябина обыкновенная (*Sorbus aucuparia* L.) как источник средств для повышения эффективности химиотерапии опухолей / Т.Г. Разина, Е.П. Зуева, **О.Ю. Рыбалкина**, Н.В. Исайкина, В.Р. Хамитова // Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии: материалы конференции IT+M&Ec'2018 (Крым, Ялта-Гурзуф, 2018 г.). – Крым, 2018. – С. 134–138.

9. Влияние экстракта плодов аронии черноплодной (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) на эритроидный росток кроветворения в условиях цитостатического воздействия / **О.Ю. Рыбалкина**, А.В. Ульрих, Е.П. Федорова, Н.В. Исайкина // Патофизиология и фармакология системы

крови: материалы Всероссийской научной конференции, посвященной 35-летию НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга (Томск, 10–11 октября 2019 г.). – Томск, 2019. – С. 31–32.

10. Гематологические эффекты экстракта плодов рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.) в онкологическом эксперименте / **О.Ю. Рыбалкина**, Е.П. Федорова, А.В. Чайковский, Н.В. Исайкина // Патофизиология и фармакология системы крови: материалы Всероссийской научной конференции, посвященной 35-летию НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга (Томск, 10–11 октября 2019 г.). – Томск, 2019. – С. 23–24.

11. Кривоченко, А.А. Изучение влияния экстракта плодов аронии черноплодной (*Aronia melanocarpa*) на эффективность химиотерапии у мышей с карциномой легких Льюис с сопутствующим индуцированным анемическим синдромом / А.А. Кривоченко, **О.Ю. Рыбалкина**, Е.П. Федорова // Перспективы развития фундаментальных наук: сборник научных трудов XVII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. Т. 4: Биология и фундаментальная медицина (Томск, 21–24 апреля 2020 г.). – Томск, 2020. – С. 49–51.

12. Ульрих, А.В. Коррекция токсического действия циклофосфана на периферическую кровь мышей с карциномой легких Льюис высоконасыщенными антоцианами экстрактами *Sorbus aucuparia* L. / А.В. Ульрих, **О.Ю. Рыбалкина** // Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины: сборник материалов Конгресса молодых ученых (Томск, 19–20 ноября 2020 г.). – Томск: Изд-во ТГУ, 2020. – С. 515–518.

13. Влияние экстракта плодов рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.) на эффективность химиотерапии у мышей с карциномой легких Льюис с индуцированным анемическим синдромом / Г.В. Гришкова, **О.Ю. Рыбалкина**, Е.П. Федорова, А.В. Ульрих, Н.В. Исайкина // Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины: сборник материалов Конгресса молодых ученых (Томск, 19–20 ноября 2020 г.). – Томск: Изд-во ТГУ, 2020. – С. 477–480.

14. Коррекция токсического влияния доксорубицина на эритропоэз животных с карциномой легких Льюис с помощью антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. / **О.Ю. Рыбалкина**, Е.П. Федорова, А.В. Чайковский, Т.Г. Разина, Г.И. Калинкина, Н.В. Исайкина, В.В. Жданов // Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы: материалы международной научно-практической конференции (Томск, 13–16 сентября 2021 г.). – Томск: Изд-во СибГМУ, 2021.– С. 216–218.

15. Разработка новой биологической модели умеренного торможения роста опухоли и метастазов карциномы легких Льюис с сопутствующим анемическим синдромом / **О.Ю. Рыбалкина**, Е.П. Федорова, Г.В. Гришкова, Т.Г. Разина // Актуальные исследования в фармакологии: тезисы докладов II Научной конференции молодых ученых с международным участием (Москва, 28–29 октября 2021 г.). – М., 2021. – С. 36–37. https://doi.org/10.29296/25877313-2020-s1-020.

16. Антоциансодержащий комплекс из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott как корректор цитостатической миелосупрессии у мышей с карциномой легких Льюис / **О.Ю. Рыбалкина**, Т.Г. Разина, Е.П. Зуева, Г.И. Калинкина, В.Ю. Андреева, В.В. Жданов // Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы: сборник материалов II Международной научно-практической конференции (Томск, 04–06 октября 2023 г.) / под ред. М.В. Белоусова. – Томск: Изд-во СибГМУ, 2023. – С. 198–200.

17. Фармакологическая коррекция анемического синдрома при цитостатической терапии / **О.Ю. Рыбалкина**, Н.В. Исайкина, Т.Г. Разина, Е.П. Федорова, А.В. Чайковский, В.В. Жданов // Фармакологические подходы в регенеративной медицине: материалы Всероссийской научной конференции, посвященной 40-летию НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга (Томск, 7–10 октября 2024 г.) / отв. ред. Г.Н. Зюзьков. – Томск: Изд-во Томского государственного университета, 2024. – С. 69–70.

18. Генопротекторная активность антоцианов в условиях цитостатической терапии / **О.Ю. Рыбалкина**, О.В. Неупокоева, В.Ю. Андреева, Г.И. Калинкина, В.В. Жданов // Научные чтения, посвященные 60-летию кафедры генетики и клеточной биологии Томского государственного университета: сборник тезисов докладов и сообщений международной конференции (Томск, 23–26 сентября 2024 г.). – Томск, 2024. – С. 27.

19. Механизмы регенерации угнетенного доксорубицином эритроидного ростка кроветворения с помощью антоцианов / **О.Ю. Рыбалкина**, Т.Г. Разина, Е.П. Федорова, Г.И. Калинкина, Н.В. Исайкина, В.В. Жданов // Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы: III Международная научно-практическая конференция (Томск, 18–20 сентября 2024 г.): сборник материалов. – Томск: Изд-во СибГМУ, 2024. – С. 292–295.

20. Эритропоэзстимулирующая активность антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott на фоне гипопластического состояния гемопоэза, индуцированного химиотерапией / **О.Ю. Рыбалкина**, В.Ю. Андреева, А.В. Чайковский, Е.П. Федорова, Н.С. Селиванова // Генетические технологии в трансляционной биомедицине: материалы III Международной конференции (Томск, 3–5 июня 2025 г.). – Томск: Изд-во СибГМУ, 2025. – С. 43.

21. Антоцианы как новые средства для регенерации эритроидного ростка кроветворения на фоне цитостатического анемического синдрома / **О.Ю. Рыбалкина**, Е.П. Федорова, В.Ю. Андреева, А.В. Чайковский, Н.С. Селиванова // Достижения фундаментальной науки – практической медицине: сборник материалов Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 50-летию медико-биологического факультета Сибирского государственного медицинского университета (Томск, 3–4 июля 2025 г.). – Томск: Изд-во СибГМУ, 2025. – С. 182–185.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

CCR2 – рецептор С-С-хемокинов 2
EpoR – рецептор к эритропоэтину
IFN-γR – рецептор к интерферону гамма
IL-4Rα – рецептор к IL-4
LLC – карцинома лёгких Льюис
PPAR-γ – рецептор γ, активируемый пролифератором пероксисом
TLR4 – toll-подобный рецептор 4
АСК – антоциансодержащий комплекс
АСК S-40 – антоциансодержащий комплекс из плодов *Sorbus aucuparia* L., приготовленный на 40% этаноле
АСК S-95 – антоциансодержащий комплекс из плодов *Sorbus aucuparia* L., приготовленный на 95% этаноле
АСК A-95 – антоциансодержащий комплекс из плодов *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott, приготовленный на 95% этаноле
БАВ – биологически активные вещества
В-16 – меланома В-16
ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография
ГИМ – гемопоэзиндуцирующее микроокружение
ДКС – доксорубицин
ИИМ – индекс ингибирования метастазирования
КлОЕ-Э – эритроидная кластерообразующая единица
КОЕ-Э – эритроидная колониеобразующая единица
МПД – максимально переносимая доза
ОФ – одиночные фрагменты
ПОЛ – перекисное окисление липидов
РЛ-67 – рак лёгкого-67
ТРО – торможение роста опухоли
ЦФ – циклофосфан
ЧМ – частота метастазирования
ЭО – эритробластические островк
ЭПА – эритропоэтическая активнс

Автор приносит благодарность профессору кафедры фармацевтического анализа ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, д-ру фарм. наук Г.И. Калинкиной, а также доцентам канд. фарм. наук Н.В. Исайкиной, канд. фарм. наук В.Ю. Андреевой (заведующий – д-р фарм. наук, проф. М.В. Белоусов); заведующей кафедрой биологии и генетики, д-ру мед. наук, доценту О.В. Воронковой. Выражаю благодарность сотрудникам лаборатории фармакологии репродуктивной системы канд. биол. наук А.В. Вычужаниной (заведующий – д-р биол. наук, проф. Т.Г. Боровская), лаборатории патологической физиологии и экспериментальной терапии канд. мед. наук А.В. Чайковскому (заведующий – д-р мед. наук, проф. РАН Г.Н. Зюзьков), лаборатории лекарственной токсикологии канд. мед. наук Е.П. Федоровой, канд. биол. наук О.В. Неупокоевой и канд. биол. наук О.Л. Вороновой (заведующий – д-р мед. наук, проф. РАН А.А. Чурин), лаборатории фармакологии кровообращения О.И. Полищук (заведующий – д-р мед. наук Алиев О.И.), лаборатории иммунофармакологии Н.С. Селивановой (заведующий – д-р мед. наук, проф. Шерстобоев Е.Ю.) НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ за участие в проведении экспериментов, а также консультативную помощь при обсуждении полученных результатов.