Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Томский национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук»
Научно-исследовательский институт фармакологии
и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга

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

Диссертация
на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Научные консультанты:

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

доктор биологических наук,
старший научный сотрудник
Разина Татьяна Георгиевна

Томск – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 7

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 18

1.1 Основные группы цитостатических препаратов, механизмы их действия и токсические эффекты 18

1.2 Анемический синдром, индуцированный цитостатическими препаратами, и возможность его коррекции 24

1.3 Генотоксичность, индуцированная цитостатическими препаратами, и возможность её коррекции 38

1.4 Фармакологические свойства *Sorbus aucuparia* L. и *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. 45

1.5 Заключение 60

2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 62

2.1 Краткая характеристика используемых препаратов 62

2.1.2 Цитостатические препараты 68

2.1.3 Препарат сравнения 70

2.1.4 Схемы введения препаратов 71

2.2 Экспериментальные животные 72

2.3 Характеристика опухолевых штаммов и методы перевивки опухолей 76

2.4 Оценка противоопухолевой и противометастатической эффективности применяемых лечебных воздействий 78

2.5 Оценка активности препаратов, избирательно стимулирующих гемопоэз 80

2.5.1 Определение показателей периферической крови 80

2.5.2 Техника окраски мазка для подсчета ретикулоцитов. Подсчет ретикулоцитов в мазке крови 80

2.5.3 Методы морфологического исследования костного мозга 81

2.6 Методы изучения механизмов антианемического действия препаратов 82

2.6.1 Выделение клеток костного мозга мышей для работы в культуре .. 82

2.6.2 Определение жизнеспособности миелокариоцитов 82

2.6.3 Фракционирование костного мозга 82

2.6.4 Клонирование прекурсоров эритропоэза *in vitro* 83

2.6.5 Определение интенсивности созревания кроветворных клеток-предшественников эритропоэза 83

2.6.6 Способ получения кондиционной среды клеток костного мозга 84

2.6.7 Способ получения сыворотки периферической крови 84

2.6.8 Метод определения эритропоэтической активности кондиционной среды клеток костного мозга и сыворотки периферической крови 85

2.6.9 Иммуноферментный метод оценки уровня эритропоэтина в кондиционной среде клеток костного мозга и сыворотке периферической крови 85

2.7 Оценка мутагенных свойств препаратов 86

2.7.1 Метод учета аберраций хромосом в клетках костного мозга мышей 86

2.7.2 Метод ДНК-комет 87

2.8 Молекулярный докинг 89

2.9 Статистическая обработка результатов 90

3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ 92

3.1 Влияние антоциансодержащих растительных комплексов на развитие перевиваемых опухолей и эффективность цитостатической терапии 92

3.1.1 Карцинома лёгких Льюис 92

3.1.1.1 Антоциансодержащий комплекс из *Sorbus aucuparia* L. 92

3.1.1.2 Антоциансодержащий комплекс из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. 99

3.1.2 Рак лёгкого-67 103

3.1.2.1 Антоциансодержащий комплекс из *Sorbus aucuparia* L. 103

3.1.2.2 Антоциансодержащий комплекс из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. 105

3.1.3 Меланома В-16 107

3.1.3.1 Антоциансодержащий комплекс из *Sorbus aucuparia* L. 107

3.1.3.2 Антоциансодержащий комплекс из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. 108

3.2 Реакции системы крови на введение доксорубицина животным без опухоли при использовании антоциансодержащих растительных комплексов 110

3.2.1 Влияние антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. на развитие доксорубицин-индуцированной анемии у мышей без опухоли 110

3.2.2 Влияние антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. на развитие доксорубицин-индуцированной анемии у мышей без опухоли 119

3.3 Разработка новой биологической модели умеренного торможения роста опухоли и метастазов у животных с карциномой легких Льюис с сопутствующей доксорубицин-индуцированной анемией 127

3.3.1 Влияние доксорубицина в дозе 6 мг/кг на развитие карциномы легких Льюис и показатели периферической крови у мышей с опухолью 127

3.4.1 Влияние антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. на эффективность химиотерапии и развитие доксорубицин-индуцированной анемии у мышей с карциномой легких Льюис 131

3.4.2 Влияние антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. на эффективность химиотерапии и развитие доксорубицин-индуцированной анемии у мышей с карциномой легких Льюис..... 140

3.5 Механизмы антианемического действия антоциансодержащих растительных комплексов..... 150

3.5.1 Коррекция доксорубицин-индуцированной анемии с помощью антоциансодержащих растительных комплексов в сравнении с рекормоном у мышей с карциномой легких Льюис 150

3.5.1.1 Применение антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia L.* для коррекции доксорубицин-индуцированной анемии в сравнении с рекормоном у мышей с карциномой лёгких Льюис..... 150

3.5.1.2 Применение антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. для коррекции доксорубицин-индуцированной анемии в сравнении с рекормоном у мышей с карциномой легких Льюис 166

3.5.2 Влияние антоциансодержащих растительных комплексов *in vitro* на эритроидное колониеобразование..... 183

3.5.3 Молекулярный докинг 185

3.5.4 Коррекция генотоксических свойств доксорубицина с помощью антоциансодержащих растительных комплексов 189

3.5.4.1 Применение антоциансодержащих растительных комплексов для коррекции генотоксических свойств доксорубицина в клетках костного мозга у мышей без опухоли 189

3.5.4.2 Применение антоциансодержащих растительных комплексов для коррекции генотоксических свойств доксорубицина в клетках костного мозга у мышей с карциномой легких Льюис 196

4 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ 203

ЗАКЛЮЧЕНИЕ 249

ВЫВОДЫ 251

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ 254

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 258

ВВЕДЕНИЕ

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 [156]. Согласно эпидемиологическим данным, в 2022 году в Российской Федерации впервые выявлено 624 835 случаев злокачественных новообразований [42, 298]. Лидирующими локализациями в общей структуре онкологической заболеваемости являются: молочная железа (12,1%), кожа (кроме меланомы) (11,8%), трахея, бронхи, лёгкое (9,7%), ободочная кишка (7,1%), предстательная железа (6,9%) [47].

Назначение цитостатических препаратов пациентам со злокачественными новообразованиями в большинстве случаев является единственно эффективным способом воздействия на распространенный опухолевый процесс [223]. 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 [126, 230]. 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 [8, 9].

Анемия – наиболее распространенная гематологическая токсичность при химиотерапии. Так, согласно данным European Cancer Anaemia Survey (ECAS), анемия занимает второе место среди гематологических осложнений цитостатической терапии [237]. Использование антибластомных препаратов для лечения солидных опухолей приводит к развитию анемии у 54% пациентов [64]. Кроме этого, анемический синдром является следствием развития опухолей, поэтому анемия при онкологических заболеваниях относится по

Международной классификации болезней (МКБ-10) к болезням крови, кроветворных органов и отдельным нарушениям, вовлекающим иммунный механизм (раздел III), под кодом D63.0 – «Анемия при новообразованиях» [61].

В настоящее время на фармацевтическом рынке представлен ряд препаратов-корректоров, снижающих токсичность цитостатиков в отношении эритрона (эритропоэтин, витамины группы В, препараты железа, гормоны и др.) [64, 74, 216]. 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. [144, 184], 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 [148]. Интересными в этом плане являются фенольные соединения, в частности, антоцианы. Согласно литературным данным, эти вещества могут снижать выраженность миелотоксических эффектов цитостатических препаратов [240]. Изредка встречаются данные о противоопухолевом и антиметастатическом действии антоцианов [326], а также об их способности подавлять процессы свободнорадикального окисления и стимулировать иммунитет [185]. 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.) [135, 291]. 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 [283, 292, 330], противодиабетические [147], противовоспалительные [127], сосудопротекторные [124], кардиопротекторные [217], нейропротекторные [163, 239], гепатопротекторные [179], иммуномодулирующие [204]. Встречаются сведения о возможности этих растений ингибировать опухолевый процесс [140, 168, 203, 312, 326].

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 В-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 В-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 легких 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 рекормона в условиях доксорубицин-

индуцированной анемии у мышей с карциномой лёгких Льюис. Показано, что комбинированное использование антоциансодержащего комплекса из плодов *S. aucuparia* с цитостатиком в ранние сроки приводит 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 C57Bl/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 C57Bl/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, iv vitro* и *in silico*). Для моделирования опухолевого процесса использовали штаммы перевиваемых опухолей: карциному лёгких Льюис, рак лёгкого-67 и меланому B-16. Антоциансодержащие комплексы вводили в комбинации с алкилирующим агентом циклофосфаном и противоопухолевым антрациклиновым антибиотиком доксорубицином. Стандартными методами эксперименталь-

ной 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 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 перевиваемой 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 «Перспекти-

вы 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).

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 представлен 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.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Основные группы цитостатических препаратов, механизмы их действия и токсические эффекты

Цитостатическая терапия у пациентов с диссеминированными злокачественными новообразованиями зачастую выступает единственным эффективным методом контроля над генерализованным опухолевым процессом [49, 87]. Разработано множество цитостатиков, отличающихся как по химическому строению, так и по механизму действия на опухолевые клетки [46, 121]. Однако фармацевтические компании и научно-исследовательские центры продолжают исследования по созданию новых высокоэффективных противоопухолевых препаратов. Сегодня в разработке находится около 2 тыс. новых молекул для лечения онкологических больных, что составляет более 30% от общего количества исследуемых молекул.

Деление противоопухолевых средств на группы, принятое в современной медицине, достаточно схематично. Однако полностью отказываться от этой классификации нецелесообразно ввиду ее практической значимости.

В современной онкофармакологии выделяют следующие группы цитостатических препаратов:

1. Алкилирующие соединения и препараты, аналогичные им по действию (циклофосфан, мелфалан, сарколизин, цифелин, ифосфамид, тиотепа, имифос и др.) [70, 121].

Механизм действия алкилирующих противоопухолевых средств базируется на их способности генерировать в нейтральной или щелочной среде высокореакционноспособные катионы (четвертичные аммониевые или аналогичные). Эти активные формы вступают в реакцию с нуклеофильными центрами биомолекул, такими как фосфатные, аминные, сульфгидрильные и имидазольные группы, формируя с ними прочные ковалентные связи. Цитотоксический эффект данной группы препаратов объясняется преимуществен-

но алкилированием азотистых оснований ДНК (пуринов и пиримидинов), что ведет к неспособности ДНК к репликации и блокирует митотическое деление клеток [115]. Помимо прямого повреждения ДНК установлено, что алкилирующие агенты способны модулировать клеточный цикл, вызывая задержку пролиферации в фазе G1 [36].

2. Антиметаболиты (метотрексат, фторурацил, меркаптопурин, гидроксимочевина, капецитабин, кладрибин, клофарабин) [70].

Принцип действия антиметаболитов основан на их метаболической активации: в результате ферментативного гидролиза этих лекарственных средств образуются соединения, которые встраиваются в биохимические процессы опухолевой клетки. Это вмешательство приводит либо к ингибированию ферментов, ответственных за синтез нуклеиновых кислот, либо к изменению структуры самих нуклеиновых кислот, что в конечном итоге вызывает гибель трансформированных клеток [55, 175].

3. Антибиотики с противоопухолевой активностью (доксорубицин, блеомицин, дактиномицин, даунорубицин, идарубицин) [70, 117].

Данная группа противоопухолевых препаратов обладает выраженным цитотоксическим действием, обусловленным угнетением синтеза и функции нуклеиновых кислот. Это достигается путем нарушения вторичной спирализации ДНК и запуском окислительного стресса [115].

4. Препараты растительного происхождения (винбластин, винкристин, винорельбин, доцетаксел, иринотекан, паклитаксел, тенипозид, топотекан, этопозид и др.) [70].

Противоопухолевое действие препаратов растительного происхождения опосредовано преимущественно действием на микротрубочки. Связываясь с молекулами тубулина, они приводят к денатурации этого белка, тем самым тормозят образование веретена деления (сборку микротрубочек) и останавливают митоз на стадии G2 и M [165].

5. Ферментные противоопухолевые препараты (L-аспарагиназа, аргинин-разрушающие ферменты, L-метионин-гамма-лиаза, ранпирназа, амфиназа, барназа и др.) [16, 92, 94, 222].

Среди противоопухолевых препаратов этой группы выделяют ферменты, расщепляющие аминокислоты и рибонуклеазы. Применение противоопухолевых ферментных препаратов, необратимо разрушающих определенные аминокислоты, основано на метаболической специфичности некоторых опухолевых клеток, характерная особенность которых заключается в отсутствии или низкой активности определенных синтетаз аминокислот [115]. Антипролиферативное действие рибонуклеаз связывают с регуляцией РНК-зависимых механизмов клеточной пролиферации и апоптоза, а также их взаимодействием с Ca^{2+}-активируемыми калиевыми каналами [93].

6. Гормональные препараты и их антагонисты (включая аминоглутетимид, анастрозол, бикалутамид, бусерелин, тамоксифен, фульвестрант, лейпрорелин, летрозол, мегестрол, митотан, нулутамид и др.) реализуют свое противоопухолевое действие посредством двух основных механизмов: системной модуляции гормонального баланса в организме и прямого воздействия на рецепторный аппарат опухолевых клеток. Клиническое применение данных средств наиболее оправдано при гормонозависимых новообразованиях, в частности, при раке молочной железы, предстательной и щитовидной желез, а также при некоторых формах лейкозов и лимфом [70, 87].

7. Иммунотерапевтические препараты (ипилимумаб, пембролизумаб, ниволумаб, дурвалумаб и др.).

Ключевая роль в реализации противоопухолевого иммунитета принадлежит Т-лимфоцитам, которые запускают сложный каскад реакций, известный как цикл иммунного ответа против рака [353]. Однако злокачественные клетки способны избегать уничтожения, используя различные стратегии. Одной из таких стратегий является активация иммунных контрольных точек (ИКТ) – особых рецепторов и их лигандов, регулирующих силу иммунного ответа. Как отмечают О.А. Безбородова с соавторами [6], наиболее изучен-

ными представителями ИКТ являются рецептор PD-1 и CTLA4, экспрессирующиеся преимущественно на Т-лимфоцитах. Блокада этих молекул с помощью моноклональных антител стала прорывным направлением в онкологии. Применение таргетных иммунопрепаратов, воздействующих на пути PD-1/PD-L1 и CTLA4, позволило значительно улучшить результаты лечения и повысить выживаемость пациентов с опухолями различного гистогенеза [182, 233, 279, 287, 348].

8. Моноклональные антитела (ритуксимаб, герцептин, авастин и др.) [115, 120].

Исторически первым таргетным агентом на основе моноклональных антител, допущенным к клиническому применению, стал ритуксимаб. Этот препарат представляет собой химерное антитело мышь/человек, специфически взаимодействующее с рецептором CD20. Данный антиген экспрессируется на поверхности пре-В-клеток и зрелых В-лимфоцитов и обнаруживается более чем в 95% случаев В-клеточных неходжкинских лимфом [254]. Дальнейшее развитие этого направления привело к созданию радиоиммуноконъюгатов. Примером служит тозитумомаб – мышиное моноклональное антитело класса IgG2a (λ-тип), также нацеленное на CD20, но конъюгированное с радиоактивным йодом-131 (I^{131}-тозитумомаб). Данный препарат находит применение при лечении неходжкинских лимфом, утративших чувствительность к ритуксимабу [190].

К классу терапевтических моноклональных антител относится трастузумаб (герцептин), мишенью которого служат рецепторы HER2, экспрессируемые на клетках рака молочной железы. Повышенная экспрессия HER2, выявляемая у 20–30% пациенток, ассоциирована с агрессивной пролиферацией и злокачественной трансформацией. Противоопухолевый эффект трастузумаба реализуется через блокаду этих рецепторов, что индуцирует цитотоксическое действие [86, 294].

Другой представитель – цетуксимаб, химерное антитело мышь/человек, нацеленное на рецептор эпидермального фактора роста (EGFR). Ингибируя

EGFR-опосредованный сигнальный каскад, препарат тормозит клеточный цикл, подавляет ангиогенез, а также снижает инвазивный и метастатический потенциал опухоли [360].

Особое место занимает бевацизумаб (авастин), механизм действия которого принципиально иной: антитело связывает фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), нарушая его взаимодействие с рецепторами на эндотелиальных клетках. Блокада VEGF подавляет неоангиогенез в опухолевой ткани, что ведет к гипоксии, дефициту питательных веществ и, как следствие, замедлению роста опухоли [35].

9. Ингибиторы тирозинкиназ (иматиниб, гифетиниб, эрлотиниб) [115].

Специфические ингибиторы тирозинкиназ представляют собой класс таргетных препаратов, избирательно подавляющих пролиферацию опухолевых клеток при минимальном воздействии на здоровые ткани. Тирозинкиназы выступают ключевым звеном в передаче сигналов от мембранных рецепторов факторов роста; они также обнаруживаются в цитоплазме и ядре, где участвуют в регуляции фундаментальных клеточных процессов – пролиферации, дифференцировки, апоптоза и ангиогенеза.

Первым синтетическим препаратом этого типа, внедренным в клиническую практику, стал иматиниба мезилат (гливек). Механизм его действия основан на ингибировании тирозинкиназной активности рецепторов тромбоцитарного фактора роста (PDGF), фактора стволовых клеток, а также ряда цитоплазматических тирозинкиназ [115].

К сожалению, имеющиеся у врачей-онкологов в арсенале противоопухолевые препараты в настоящее время являются недостаточно совершенными. Как правило, они обеспечивают только ремиссию и лишь при некоторых опухолевых заболеваниях путем применения ряда средств можно добиться полного излечения [46, 92, 93].

В настоящее время разработка новых противоопухолевых препаратов ведется в двух направлениях. Первым направлением является поиск новых цитостатиков, которые будут использованы в лечении пациентов с наиболее

распространенными злокачественными новообразованиями (рак легких, печени, желудка, молочной железы и колоректальный рак). Другим приоритетным направлением исследований является создание препаратов для лечения злокачественных новообразований, которые регистрируются не часто, но их развитие означает для пациента неизбежный смертельный приговор [83, 89].

Еще одним существенным барьером на пути широкого внедрения современных схем химиотерапии для лечения пациентов с онкологическими заболеваниями выступает труднодоступность инновационных препаратов. Данная проблема носит глобальный характер, поскольку стоимость лечения оригинальными противоопухолевыми средствами неуклонно возрастает. При этом возможности ее решения напрямую зависят от уровня экономического развития страны. В государствах с развитой экономикой (США, Австрия, Норвегия, Франция, Германия, Люксембург, Швеция, Швейцария) высокая стоимость терапии компенсируется значительными бюджетными ассигнованиями на здравоохранение (более 16 000 долл. на одного онкопациента). В странах же с менее развитой экономикой, к которым относится и Россия, ситуация обстоит значительно хуже. Как отмечают И.К. Петрухина с соавторами [89], государственные расходы на лечение одного онкологического больного в РФ составляют лишь около 45,6 тыс. рублей, что делает высокотехнологичную помощь фактически недоступной для большинства российских пациентов со злокачественными новообразованиями.

Терапия антибластомными средствами сопряжена с широким спектром нежелательных реакций [57, 209, 325]. К наиболее распространенным относятся гепато-, нейро-, нефро- и кардиотоксичность, иммунодепрессия, аллергические проявления, а также геморрагии, цистит, диспепсические расстройства (тошнота, рвота), алопеция и осложнения со стороны респираторной системы и желудочно-кишечного тракта [70, 121]. Особого внимания заслуживает гематологическая токсичность, представляющая собой одну из наиболее жизнеугрожающих категорий осложнений. Так, применение цитостатиков у онкологических пациентов закономерно приводит к угнетению

кроветворения, проявляющемуся нейтропенией, анемией, тромбоцитопенией и развитием геморрагического синдрома [53, 72, 84].

Частым дозолимитирующим побочным эффектом противоопухолевой терапии онкологических больных является анемия различной степени выраженности [72, 84], приводящая к повышенной утомляемости, нарушению физических функций и снижению качества жизни.

Кроме того, практически все известные цитостатические препараты обладают потенциальным мутагенным воздействием на наследственный материал человека. В случае нарушения структуры нуклеиновых кислот наблюдается активация ферментативных систем, которые обеспечивают реализацию программ клеточной гибели нормальных клеток или же выживание опухолевых клеток [39, 196, 259].

1.2 Анемический синдром, индуцированный цитостатическими препаратами, и возможность его коррекции

В онкологической практике встречаются несколько синдромов, патогенез которых тесно связан с развитием эндогенной интоксикации (синдром анорексии – кахексии, синдром распада опухоли, гиперурикемия, синдром повышенной вязкости крови) [81, 191]. Также к ним относится анемический синдром: снижение уровня гемоглобина ниже 120 г/л и числа эритроцитов в крови по отношению к физиологическому уровню, необходимому для удовлетворения потребности тканей в кислороде [84]. По данным Европейского исследования European Cancer Anaemia Survey (ECAS), анемия наблюдается у 39% пациентов со злокачественными новообразованиями [73]. Анемия при онкологических заболеваниях относится по Международной классификации болезней (МКБ-10) к болезням крови, кроветворных органов и отдельным нарушениям, вовлекающим иммунный механизм (раздел III), под кодом D63.0 – «Анемия при новообразованиях» [61, 75, 84].

Клинически анемический синдром характеризуется общей слабостью, умственной подавленностью, повышенной утомляемостью, болями в сердце, депрессией, пониженной работоспособностью, дезадаптацией [98].

Известно, что угнетение эритроидного ростка кроветворения на фоне развития онкологических заболеваний осложняет их течение. Одним из механизмов, приводящих к развитию анемии, является гиперпродукция провоспалительных цитокинов (фактор некроза опухолей (TNFα), интерфероны (IFNγ), интерлейкин – 1(IL-1)) вследствие активации иммунной системы опухолевым процессом. Например, TNFα способен одновременно сокращать срок жизни эритроцитов до 90–60 дней, а также опосредованно влиять на продукцию эритропоэтина и метаболизм железа и витаминов [130]. Также известно, что действие провоспалительных цитокинов приводит к снижению чувствительности гемопоэтических клеток к воздействию эритропоэтина и гибели эритроидных предшественников [67].

Другим механизмом воздействия злокачественных новообразований на костномозговое кроветворение является метастатическое поражение костного мозга или опухоль-индуцированный фиброз и некроз. Перечисленные факторы ведут к вытеснению костномозговых предшественников и развитию апластической анемии [195, 335, 357].

По данным большинства исследований, анемический синдром у пациентов со злокачественными новообразованиями является следствием как развития опухолей, так и проводимой химиотерапии [64]. Согласно данным ECAS, анемия занимает второе место среди гематологических осложнений цитостатической терапии [343]. Так, у 31% пациенток с раком молочной железы (РМЖ), получавших химиотерапию, диагностируется снижение концентрации гемоглобина ниже 100 г/л, у 14% – ниже 90 г/л. Использование антибластомных препаратов для лечения солидных опухолей приводит к развитию анемии у 54% пациентов [64]. Миелосупрессивный эффект при проведении химиотерапии усиливается с каждым проводимым курсом. Это подтверждено результатами исследования ECAS, в котором показано, что доля пациен-

тов с анемией до начала лечения составляла 20%, а к 5 курсу их процент увеличился до 47% [238].

Цитостатические препараты, воздействуя на тот или иной росток кроветворения, могут не только приводить к угнетению гемопоэза, но и вызывать гемолитические анемии. Механизм их токсического действия на костномозговое кроветворение связан с повреждением клеток-предшественников гемопоэза, а также гемопоэзиндуцирующего микроокружения (ГИМ) и стромы [40, 250].

Последствия развития анемического синдрома заключаются в изменении на его фоне биологии опухолевых клеток и появлении новых путей метаболизма в условиях гипоксии [194, 200, 284]. Низкие концентрации кислорода усиливают нестабильность генома, инициируют Akt-mTOR передачу сигналов и активацию генов HIF (фактор, индуцируемый гипоксией), NF-kβ (ядерный фактор) и AP-1 (активаторный фактор 1), что способствует адаптации клеток к новым условиям существования [334]. Кроме того, на фоне снижения концентрации кислорода наблюдаются нарушения экспрессии гена p53, что блокирует апоптоз опухолевых клеток. Изменения активности генома приводят к стимуляции ангиогенеза, тем самым провоцируя опухолевый рост, инвазию и метастазирование [81, 334]. Кроме того, гипоксия является фактором химио- и радиорезистентности опухолей [137, 303]. Таким образом, гипоксическое состояние способствует развитию агрессивного фенотипа опухоли и является универсальным фактором неблагоприятного прогноза, что доказывает необходимость лечения анемического синдрома на фоне развития злокачественных новообразований. Устранение анемии может привести к ингибиции развития опухолевого процесса, а также к повышению результативности противоопухолевой и антиметастатической терапии, что в конечном итоге улучшит качество жизни и повысит выживаемость таких пациентов.

В настоящее время выделяют четыре основных способа лечения анемического синдрома:

1. Заместительная терапия (проведение гемотрансфузий);
2. Использование рекомбинантного человеческого эритропоэтина;
3. Использование витаминов группы В;
4. Использование препаратов железа.

Заместительная терапия (проведение гемотрансфузий). Трансфузия эритроцитной массы остается одним из ключевых методов коррекции анемии. Ее основное преимущество заключается в способности быстро восполнять дефицит эритроцитов, что позволяет предотвратить гипоксию жизненно важных органов, в частности, головного мозга и миокарда [27]. Помимо быстрого действия, данный метод характеризуется относительной экономической доступностью, так как не требует значительных материальных затрат. Кроме того, согласно современным данным, гемотрансфузия способствует улучшению реологических свойств крови, что особенно важно при критических состояниях [365].

Трансфузия эритроцитоодержащих сред проводится строго по жизненным показаниям – при тяжелой анемии с уровнем гемоглобина ниже 70 г/л, поскольку данная процедура сопряжена с риском развития серьезных осложнений [34]. Спектр возможных нежелательных реакций включает трансфузионные осложнения (гемолиз вследствие групповой несовместимости, анафилаксию), уртикарную сыпь, острое повреждение легких, фатальный гемолиз, инфицирование гепатитами В и С, передачу других инфекционных агентов, а также отдаленные последствия в виде гемосидероза внутренних органов [137]. Кроме того, в современных исследованиях подтверждается иммуносупрессивное действие гемотрансфузий [181]. Анализ клинических исследований показал увеличение общей выживаемости у пациентов с низким уровнем гемоглобина без гемотрансфузии по сравнению с группой больных, получавших переливание эритроцитов, что может вызывать настороженность в отношении переливания эритроцитарной массы [281]. Исследования

Vamvakas E.C. et al. [333], в которых изучалось влияние переливания крови на продолжительность жизни онкологических пациентов, выявили увеличение риска смерти в течение 10 лет на 4,1% после трансфузии 1 дозы эритроцитарной массы. Главными недостатками гемотрансфузии являются кратковременность эффекта и постоянный недостаток донорской крови [19].

Трансфузия эритроцитарной массы долгое время была единственным эффективным методом лечения анемии, пока ученые-биологи не выделили и клонировали ген человеческого эритропоэтина с последующим его промышленным синтезом.

Рекомбинантный человеческий эритропоэтин. При анемии средней степени тяжести (уровень гемоглобина в диапазоне 80–100 г/л) онкологическим пациентам нередко показана терапия стимуляторами эритропоэза, среди которых ключевое место занимает рекомбинантный человеческий эритропоэтин (рчЭПО) [64].

Эритропоэтин представляет собой гликопротеид, активирующий пролиферацию и дифференцировку клеток эритроидного ряда, начиная с бурстобразующей единицы и вплоть до зрелых эритроцитов [189]. Синтез эндогенного ЭПО регулируется гипоксия-индуцибельным фактором (HIF). У значительной части онкологических больных с анемией наблюдается дефицит выработки собственного эритропоэтина почками и печенью, поэтому экзогенное введение рчЭПО эффективно стимулирует эритропоэз и увеличивает продукцию эритроцитов [160].

В настоящее время выделяют три поколения рчЭПО. К первому поколению относят: эпоэтин альфа, эпоэтин бета, эпоэтин зета и тета. Второе поколение представлено дарбэпоэтином альфа, третье – метоксиполиэтиленгликолем эпоэтином бета. Эпоэтин альфа и эпоэтин бета биологически соответствуют нативному ЭПО, имеют идентичную аминокислотную последовательность, а разница между ними заключается в уровне ее гликозилирования. Дарбэпоэтин отличается от первого поколения двумя дополнительно присо-

единенными углеводородными цепями и, как следствие, возросшей молекулярной массой и более длительным периодом полувыведения [52, 141].

В таблице 1 представлены зарегистрированные лекарственные препараты рекомбинантных эритропоэтинов в Российской Федерации, странах Европейского Союза (ЕС) и США.

Таблица 1 – Зарегистрированные лекарственные препараты рекомбинантных эритропоэтинов в Российской Федерации, странах ЕС, США [52]

Международное название препарата	Торговое наименование		
	Российская Федерация	Страны ЕС	США
Epoetin alfa	Аэприн Бинокрит Эпокомб Эпрекс Эпокрин	Abseamed Binocrit Epoetin	Epogen
Epoetin beta	Рекормон Эпостим Эритропоэтин Веро-Эпоэтин Эритростим	NeoRecormon	–
Epoetin zeta	–	Biopoin Eporatio	–
Epoetin theta	–	Retacrit Silapo	–
Darbepoetin alfa	Аранесп	Aranesp	Aranesp
Methoxipoly-ethyleneglycol epoetin beta	Мирцера	Mircera	Aranesp

Согласно рекомендациям Национальной всеобщей онкологической сети (National Comprehensive Cancer Network, NCCN), к применению одобрено 2 типа ЭПО – эпоэтин альфа короткого действия в дозе 150 МЕ/кг 3 раза в неделю или 40 000 МЕ 1 раз в неделю и дарбэпоэтин альфа длительного действия в дозе 500 мкг 1 раз в 3 недели [258]. В отечественные рекомендации Российского общества клинической онкологии вошли следующие ЭПО: короткого действия – эпоэтин альфа, эпоэтин бета, эпоэтин тета, и ЭПО длительного действия – дарбэпоэтин альфа [107].

Эффективность применения рчЭПО в профилактике и лечении анемии онкологических больных продемонстрирована в метаанализе [141], где было

показано, что применение эритропоэтина снизило использование гемотрасфузии на 36%. В других исследованиях у 70,6% пациентов регистрировалось повышение уровня гемоглобина до 125 г/л, а также улучшение качества жизни [252, 256].

Препараты рекомбинантного человеческого эритропоэтина также назначают параллельно с цитостатической терапией. Согласно данным J. Bohlius et al. [141], применение рчЭПО на фоне химиотерапии способствует улучшению качества жизни. Однако отмечено увеличение риска тромбоэмболических осложнений, а также смерти при уровне гемоглобина выше 120 г/л [187].

Такой парадоксальный эффект ученые объясняют двумя причинами: тем, что повышение уровня гемоглобина выше 120 г/л приводит к падению оксигенации опухолевой ткани и наличием на опухолевых клетках рецепторов эритропоэтина [81]. Однако изучение роли рецепторов эритропоэтинов на негемопоэтических клетках, в том числе на опухолевых, требует дальнейшего выяснения, так как полученные клинические и доклинические результаты носят противоречивый характер [141].

Таким образом, во избежание перечисленных выше нежелательных побочных эффектов при назначении эритропоэтинов пациентам со злокачественными новообразованиями, получающим цитостатическую терапию, необходимо определять исходный уровень гемоглобина (не более 120 г/л), а также проводить мониторинг этого показателя. Согласно полученным клиническим результатам, следует регулировать используемую дозу препарата [336]. Кроме того, назначение рчЭПО на фоне использования цитостатиков должно быть тщательно обдумано лечащими врачами пациентов, входящих в следующие группы риска.

1. Наличие тромбозов в анамнезе.

2. После оперативного лечения.

3. Наличие длительной иммобилизации или ограниченной активности [107].

Еще одним недостатком использования эритропоэтинов для коррекции анемического синдрома является их высокая стоимость, что также ограничивает широкое применение данной группы препаратов [60].

В таблице 2 представлена сравнительная характеристика основных методов лечения анемического синдрома у онкологических пациентов.

Таблица 2 – Сравнительная характеристика методов коррекции анемического синдрома: гемотрансфузия и использование рекомбинантного человеческого эритропоэтина [258]

	Гемотрасфузия	Эритропоэтин
Риски	1. Трансфузиологические и иммунологические реакции. 2. Возможность передачи вирусной инфекции (ВИЧ, вирусные гепатиты и др.). 3. Бактериальная контаминация донорской крови. 4. Перегрузка железом при частых гемотрансфузиях. 5. Увеличение числа тромбоэмболических осложнений. 6. Возможные рецидивы злокачественных новообразований	1. Увеличение частоты тромбозов. 2. Возможное снижение уровня выживаемости. 3. Возможное уменьшение времени до прогрессирования. 4. Высокая стоимость
Преимущества	1. Быстрое достижение эффекта (увеличение уровня гемоглобина). 2. Уменьшение симптомов, связанных с анемией. 3. Относительно низкая цена	1. Снижение частоты гемотрансфузий. 2. Постепенное уменьшение симптомов, обусловленных анемией

Витамины группы В. В современной нутрициологии витамины B_6, B_{12} и фолиевая кислота рассматриваются как генопротекторы, то есть вещества, защищающие генетический аппарат клетки. Витамин B_{12} представляет собой координационный комплекс, содержащий кобальт и цианогруппу. Его эндогенным источником служит кишечная микрофлора, экзогенным – продукты животного происхождения: дрожжи, молоко, красное мясо, печень, почки, рыба, яичный желток [144]. Фолат и холин выполняют функцию ключевых

доноров метильных групп, необходимых для синтеза митохондриальных белков, и тем самым участвуют в защите митохондриального генома. В настоящее время активно исследуется способность витаминов группы В нейтрализовать цитотоксическое действие ксенобиотиков, а также изучаются последствия их дефицита, в частности, развитие анемического синдрома.

У онкологических пациентов, особенно при раке желудка и атрофии слизистой оболочки желудка, индуцированной химио- или лучевой терапией, часто наблюдается дефицит витамина B_{12}. Это связано с нарушением синтеза внутреннего фактора Кастла – гликопротеина, необходимого для превращения витамина B_{12} в активную форму, его транспорта и абсорбции в тонкой кишке. Сочетанный дефицит витамина B_{12} и фолиевой кислоты на фоне нарушений метаболизма фолатов существенно повышает риск венозных тромбозов и прогрессирования злокачественных процессов [345]. Для коррекции этих состояний требуются более высокие дозы витаминов B_{12}, B_6 и фолиевой кислоты [214]. Рядом ученых предложен новый маркер дефицита витамина B_{12} и фолиевой кислоты в организме – высокий уровень гомоцистеина, что может одновременно являться онкологическим индикатором [243].

В настоящее время для терапии B_{12}-дефицитной анемии рекомендуется введение этого витамина в дозе 100–200 мкг ежедневно в течение 1 недели с последующим переходом на его использование через день до достижения полной гематологической ремиссии (нормализации кроветворения и купирования анемии). При дефиците фолиевой кислоты последнюю назначают по 3 мг ежедневно на протяжении 1 месяца [81].

Однако существуют многолетние клинические наблюдения, свидетельствующие о повышенном риске развития злокачественных новообразований при чрезмерном употреблении витаминов группы В (рак простаты, легких) [144, 184].

Препараты железа. Железо выступает кофактором множества ферментов, обеспечивающих ключевые метаболические процессы. Частота же-

лезодефицитных состояний у онкологических пациентов варьирует в пределах 30–60%.

Различают два типа дефицита железа – абсолютный и функциональный. Для функционального дефицита характерны нормальный или повышенный уровень сывороточного ферритина и насыщения трансферрина на фоне увеличения доли гипохромных эритроцитов и ретикулоцитов, снижения среднего объема эритроцитов и содержания в них гемоглобина. Такое состояние обычно возникает вследствие возросшей потребности костного мозга в железе при стимуляции эритропоэза рекомбинантным человеческим эритропоэтином (рчЭПО).

Абсолютный дефицит железа у онкобольных развивается из-за недостаточного поступления элемента с пищей, нарушений его абсорбции в желудочно-кишечном тракте либо в ситуациях повышенной потребности (например, после хирургических вмешательств или при хронических кровопотерях) [258].

Терапия железодефицитной анемии в онкологии начинается с назначения препаратов железа. При функциональном дефиците их комбинируют со стимуляторами эритропоэза. Введение препаратов железа противопоказано при уровне ферритина >800 мг/мл и насыщении трансферрина 20% [74].

Для парентерального (внутривенного) введения используются железоуглеводные комплексы: карбоксимальтозат железа (феринжект), сахарат железа (венофер), глюконат железа (ферлицит), декстран железа (феррумлек, космофер). Структурно они представляют собой коллоидные частицы с ядром из железа-(III)-оксигидроксида, аналогичным ферритиновому, стабилизированные углеводной оболочкой [161].

Впервые эффективность комбинации рчЭПО с препаратами железа была выявлена в нефрологии, причем было установлено преимущество именно внутривенных форм препаратов железа по сравнению с пероральными. Проведен ряд исследований по оценке такого лечения у онкологических больных с анемией, индуцированной химиотерапией. Так, в исследовании

Auerbach M. et al. [130] показано, что через 6 недель после комбинированного лечения онкологических пациентов эритропоэтином альфа и декстраном железа наблюдалось максимальное повышения гемоглобина – 119–122 г/л по сравнению с группой пациентов без терапии. Дополнительно оценивалась частота гематологического ответа: процент пациентов, достигших уровня гемоглобина ≥120 г/л или имевших увеличение данного показателя на ≥20 г/л. Гематологический ответ в группе комбинированного лечения достоверно превышал этот показатель в контроле: 68 и 25% соответственно (P<0,01). Аналогичные результаты были получены Henry D.H. et al. [193]. Клиническое исследование показало, что включение препаратов железа, таких как глюконат железа и сульфат железа, в терапию эритропоэтином альфа на фоне использования цитостатиков приводит к достоверному приросту уровня гемоглобина в периферической крови пациентов со злокачественными новообразованиями. Гематологический ответ у больных, получавших глюконат железа совместно с рчЭПО, составил 73% против 41% в контрольной группе.

В 2008 году были обнародованы результаты масштабного открытого рандомизированного исследования III фазы, в котором оценивалась эффективность комбинированной терапии у онкологических пациентов. Участники с исходным уровнем гемоглобина ниже 105 г/л и насыщением трансферрина более 15% получали либо монотерапию дарбэпоэтином альфа (контрольная группа), либо его сочетание с сахаратом железа. Согласно полученным данным, частота гематологического ответа в группе комбинированного лечения достигла 86%, тогда как в контрольной группе этот показатель составил 73%. Кроме того, авторы проанализировали потребность в заместительных гемотрансфузиях. Добавление препарата железа к терапии эритропоэтином позволило достоверно снизить частоту переливаний эритроцитарной массы в 2,2 раза по сравнению с группой, получавшей только рчЭПО [136].

В исследовании Hedenus M. с соавторами (2007) были получены дополнительные данные, касающиеся не только гематологического ответа, но и

экономической составляющей лечения. Авторы установили, что комбинация рчЭПО с препаратами железа позволяет сократить расход эритропоэтина в среднем на 25%.

Известны работы, доказывающие перспективность изолированного назначения препаратов железа онкологическим пациентам, получающим химиотерапию. Показано, что такой режим использования лекарственных средств приводит к снижению потребности в заместительной терапии [136].

Одним из основных доводов против внутривенного использования препаратов железа является риск развития анафилактических и других серьезных аллергических реакций. Пероральный путь введения препаратов этой фармакологической группы может также приводить к нежелательным побочным эффектам со стороны желудочно-кишечного тракта.

Другие способы коррекции анемического синдрома. При гемолитических анемиях, с учетом иммунного механизма их развития, могут быть назначены глюкокортикоиды. Эти препараты широко применяются в лечении злокачественных новообразований в качестве средств сопроводительной терапии для снижения выраженности побочных эффектов цитостатических препаратов, в частности, анемического синдрома [81]. Однако длительное применение гормонов может вызвать резистентность к противоопухолевым препаратам и способствовать прогрессии развития опухоли и метастазов [144].

При низкой эффективности описанного выше подхода врачи могут назначать для лечения пациентов со злокачественными новообразованиями с сопутствующим анемическим синдромом иммунного генеза иммунодепрессанты, антигормоны (даназол), моноклональные антитела к лимфоцитам (ритуксимаб, алемптузумаб), иммуноглобулины [195]. Также известно применение эфферентной терапии и спленэктомии [19].

В настоящее время перспективным считается изучение БАВ природного происхождения как потенциальных соединений для создания на их основе новых гемостимуляторов. Источниками таких БАВ являются различные ле-

карственные растения. В Государственном реестре лекарственных средств [33] в список растений, применяемых в терапии анемий, входят горец перечный, калина обыкновенная, крапива обыкновенная, лагохилус опьяняющий, омела белая, переступень белый, перец водяной, тысячелистник обыкновенный, виды хлопчатника, щавель конский, чистец буквицецветный.

Согласно руководству по фитотерапии и фитофармакологии, в качестве средств, обладающих антианемическим действием, можно применять следующие растения: сушеница, лапчатка прямостоячая, марена красильная, подорожник, лен, шиповник, тимьян, черемуха [108]. Также пациентам с анемией следует включать в рацион питания черную смородину, виноград, крыжовник, черноплодную рябину, чернику и др. [59]. Эти лекарственные растения богаты полифенолами, которые обладают выраженной антиоксидатной активностью [146, 349].

Известным антиоксидантом является аскорбиновая кислота, содержащаяся во многих лекарственных растениях (плоды шиповника и актинидии, листья земляники и смородины и др.). В литературе встречаются сведения об ее использовании в качестве протектора ферро-иона, что способствует активной защите от действия химиотерапевтических агентов. В настоящее время в состав многих современных средств фармакотерапии анемии входит аскорбиновая кислота (сорбифер дурулес (таблетки), гино-тардиферон (таблетки), фенюльс (капсулы), ферроплекс (драже)) [108].

Интересными для терапии анемического синдрома могут быть такие антиоксиданты природного происхождения, как байкалеин, байкалин, содержащиеся в экстракте шлемника байкальского (ЭШБ). На протяжении многих лет в НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга ТНИМЦ изучался ЭШБ как гемостимулятор при гемодепрессиях различной этиологии. Так, показано, что ЭШБ в условиях чрезвычайных экспериментальных невротических воздействий оказывает нормализующее влияние на эритроидных росток кроветворения. Кроме того, выяснен механизм стимуляции регенерации эритропоэза при цитостатической терапии – увеличение функциональной активности клеточных

элементов ГИМ [41]. На базе НИИ онкологии Томского НИМЦ показано, что включение препарата на основе ЭШБ в схему химиотерапии пациентов с раком лёгкого III–IV стадии приводит к значительному увеличению количества эритроцитов, ретикулоцитов, а также возрастанию содержания циркулирующих эритроидных прекурсоров [112].

В работе Settakorn K. et al. [296] показано, что назначение нокаутным мышам с β-талассемией экстракта зеленого чая, богатого эпигаллокатехин-3-галлатом, приводит к увеличению количества эритроцитов, однако уровень гемоглобина при этом не изменяется. Известно, что эпигаллокатехин-3-галлат относится к группе полифенольных соединений и обладает выраженным антиоксидантным действием [106]. На современном фармацевтическом рынке зарегистрирована биологически активная добавка к пище, являющаяся дополнительным источником эпигаллокатехин-3-галлата.

Таким образом, у большинства пациентов со злокачественными новообразованиями анемический синдром занимает одну из центральных позиций в клинической картине. Роль анемии при этом не ограничивается её негативным влиянием на качество жизни пациентов. К настоящему времени многочисленными исследованиями подтверждено неблагоприятное влияние анемии на результаты терапии онкологических заболеваний. Установлены различные причины развития анемического синдрома, поэтому целесообразно проводить лечение в соответствии с патогенетическим вариантом анемии.

Известно множество способов коррекции анемического синдрома у онкологических больных, однако накопилось большое количество данных, свидетельствующих об их недостатках. Актуальной задачей онкофармакологии является поиск новых веществ с целью создания на их основе лекарственных препаратов, стимулирующих на фоне развития опухолей эритропоэз и/или снижающих токсическое воздействие химиотерапии на эритроидный росток кроветворения.

Одной из возможных причин развития анемического синдрома при цитостатической терапии являются повреждения ДНК как стволовых крове-

творных клеток, так и клеток-предшественников эритропоэза, что способно привести к значительному снижению их регенеративного потенциала.

1.3 Генотоксичность, индуцированная цитостатическими препаратами, и возможность её коррекции

Результатом действия всех цитостатических препаратов являются ингибирование клеточной пролиферации и гибель опухолевых клеток (регрессия опухоли). Этот эффект в основном достигается путем воздействия на ДНК, конечным результатом чего является остановка клеточного цикла либо запуск программируемой клеточной гибели клеток – апоптоз [8, 9].

Известно, что основным механизмом цито- и генотоксического действия всех алкилирующих агентов является повреждающее действие их метаболитов на ДНК. Так, метаболиты циклофосфана (4-гидроксициклофосфамид, азотистый иприт), образованные в результате окисления изоформами цитохрома P450 (CYP 2B6, 3A4, 3A5, 2C9), ковалентно связываются с нуклеотидами ДНК клетки. Наибольший цитотоксический и генотоксический эффект наблюдается при образовании гуаниновых димеров [188, 206]. В месте образования таких пар азотистых оснований нарушается работа ДНК-зависимой ДНК-полимеразы, что ведёт к остановке репликации и деления клетки. Благодаря этому механизму циклофосфан ингибирует пролиферацию любых быстро делящихся клеток во всех фазах клеточного цикла [39]. Как правило, описанный выше механизм действия алкилирующих агентов на ДНК приводит к несбалансированным цитогенетическим аномалиям, таким как частичная потеря или делеция 5 и 7 хромосом (Pinto V. et al., 2020).

Противоопухолевая активность антиметаболитов основана на их структурном или функциональном подобии метаболитам, участвующим в синтезе нуклеиновых кислот. В результате нераспознавания и включения в обмен опухолевой клетки антиметаболиты либо нарушают функцию ферментов,

участвующих в синтезе нуклеиновых кислот, либо, включаясь в ДНК, нарушают их генетический код, что ведет к гибели клеток. В связи с тем, что точкой приложения антиметаболитов является синтез ДНК, они наиболее активны в быстро делящихся клетках и большей частью являются фазовоспецифическими препаратами [20].

Цитостатики, относящиеся к группе противоопухолевых антибиотиков, подавляют синтез нуклеиновых кислот на уровне ДНК-матрицы. Механизм их действия сводится к интеркаляции и ковалентному связыванию ДНК, торможению работы топоизомеразы I и II. Способностью ингибировать топоизомеразу II обладают антибиотики антрациклинового ряда (доксорубицин, даунорубицин и др.), а также производные подофиллотоксина (этопозид, вепезид и др.) [261]. Известны два основных механизма действия антрациклиновых антибиотиков. Первый связан с их способностью интеркалировать в молекулу ДНК и нарушать репарацию путем ингибирования топоизомеразы II, второй связан с образованием свободных радикалов [245]. Антрациклины активируются путем превращения их тетрациклического агликона в семихиноновый анион-радикал с помощью НАДФН-цитохром Р450-редуктазы, НАДФ-дегидрогеназы, ксантиноксидазы и некоторых других ферментов.

Механизм мутагенного действия препаратов из группы ингибиторов топоизомеразы I (иринотекана и топотекана) основан на ингибиции репликации ДНК посредством блокады ДНК-полимеразы, за счёт стабилизации комплекса с топоизомеразой I метаболита цитостатика – SN38 [152]. В результате наблюдается перекручивание молекулы ДНК, что влечёт за собой повреждение спирали ДНК и последующее образование разрывов [246]. Это замедляет или делает невозможным деление клеток при наличии соответствующих дефектов репарации повреждений ДНК. Использование цитостатических препаратов этой группы, как правило, приводит к транслокациям в хромосоме 11 (11q23), делеции хромосомы 7 [262].

Средства растительного происхождения (винкаалкалоиды, камптотецины, подофиллотоксины) по механизму действия подразделяются на препараты, точкой приложения которых являются микротрубочки митотического аппарата клетки и ингибиторы топоизомеразы ДНК [55, 56, 87].

Группа таргетных противоопухолевых препаратов также может негативно влиять на генетический аппарат клеток. Так, при изучении иматиниба, который ингибирует тирозинкиназу BCR-ABL, показано, что использование этого препарата в токсичных дозах вызывает в клетках разрывы ДНК, появление микроядер и другие генетические и эпигенетические повреждения [264]. В работе Ko J.C. et al. [215] показано, что применение гефитиниба приводит к увеличению вероятности негомологичного воссоединения концов хромосом за счёт ингибиции экспрессии белка RAD51, необходимого для репарации двунитиевых разрывов ДНК путём гомологичной рекомбинации и возникновению мутантных вариантов нормальных клеток.

Механизм токсического влияния на ДНК клеток препаратов платины, например, цисплатина, заключается в образовании гидролизованной молекулы, которая становится мощным электрофилом, реагирующим с любыми нуклеофилами. Его менее токсичные аналоги карбоплатин и оксалиплатин также образуют моноаддукты и диаддукты. Последние связывают два основания ДНК, образуя прочные внутри- и межнитевые сшивки, которые нарушают процессы репликации и транскрипции как в опухолевых, так и в нормальных клетках [9]. Так, показано, что препараты платины могут вызывать мутации в ДНК стволовых кроветворных клеток [231, 314].

Основными мишенями любых цитостатических препаратов являются быстро делящиеся клетки, к которым можно отнести как опухолевые, так и нормальные клетки (эмбриональные клетки, клетки костного мозга, кожи, слизистой желудочно-кишечного тракта и т.д.) [12]. Именно ДНК-повреждающее действие цитостатической терапии в отношении нормальных клеток может привести к тяжелым побочным эффектам, в частности, к развитию вторичных опухолей.

Известно, что после использования паклитаксела в метафазных пластинках клеток здоровых тканей может наблюдаться анеуплоидия. Через 3 мес после введения этого цитостатика у животных выявляются аберрантные метафазные пластинки (образование геномных и структурных аномалий хромосом), а также полиплоидные клетки. Этот эффект может быть связан с нарушением системы репарации ДНК [78]. Имеются данные о влиянии цитостатических препаратов на ДНК клеток крови у медицинских работников онкологических отделений. Так, доказано, что противоопухолевые средства приводят к увеличению количества хромосомных аберраций и микроядер в клетках крови, что свидетельствует об их генотоксическом действии [231, 253, 255].

В литературе имеются экспериментальные данные, доказывающие гонадотоксическое действие антибластомных препаратов. Так, паклитаксел, карбоплатин, вепезид обладают способностью индуцировать доминантные летальные мутации в сперматогониях за счёт нарушения генетического аппарата [13, 14, 39]. При изучении анеугенных эффектов противоопухолевых агентов в ооцитах мышей *in vivo* методом цитогенетического анализа показано, что использование паклитаксела (2,5–7,5 мг/кг) и этопозида (10–60 мг/кг) приводит к выраженному дозозависимому анеугенному эффекту (индукция до 25% анеуплоидных ооцитов). Также наблюдалось увеличение выхода ооцитов с остановкой на стадии М1 мейоза и с преждевременным расхождением сестринских хроматид. До 20% полигаплоидных ооцитов появляется под действием паклитаксела [90]. В работе Attia S.M. и др. [129] показано, что применение доксорубицина в дозах 3, 6, 12 мг/кг приводит к дозозависимому увеличению количества дисомных и диплоидных сперматозоидов, а также количества центромерно-негативных и центромерно-позитивных окрашенных микроядерных эритроцитов, что указывает на индукцию как кластогенности, так и аневгенности.

Применение цитостатических препаратов может вызвать трансгенерационные отдаленные эффекты [218]. Известно, что при использовании алки-

лирующих агентов отмечаются гибель либо цитогенетические нарушения стволовых сперматогониальных клеток в результате повреждений ДНК как в ранние, так и в отдаленные сроки после их введения [311]. В эксперименте на крысах-самках показано, что в отдаленные сроки после введения этопозида (3 мес) отмечается возрастание количества плодов с наружными кровоизлияниями и патологическими изменениями внутренних органов. Кроме того, у родившегося потомства наблюдалось снижение скорости формирования сенсорно-двигательных рефлексов, способности к обучению, адаптивному поведению. Полученные результаты доказывают негативное влияние этого цитостатического препарата на оогенез животных [15]. Аналогичные данные получены при использовании противоопухолевых средств из группы комплексных соединений платины и антибиотиков антрациклинового ряда. Так, установлено, что эти препараты в отдаленные сроки после введения (через 3 и 6 мес) приводят к истощению резервных возможностей яичников. Отмечено, что угнетение воспроизводящей функции более выражено на фоне введения антрациклиновых антибиотиков. При оценке изменений состояния мужской репродуктивной системы под воздействием доксорубицина и фарморубицина показано, что через 1, 3 и 6 мес наблюдалось угнетение сперматогенеза. Авторы предполагают, что в основе отдаленных эффектов лежит токсическое действие цитостатиков на сперматоциты первого порядка и сперматогонии [22].

При использовании цитостатиков, независимо от механизма действия, зачастую происходит инициация образования активных форм кислорода. Так, при назначении пациентам со злокачественными новообразованиями антибластомных препаратов усиливается свободнорадикальное окисление и снижается активность ферментных антиоксидантных систем [347]. В исследованиях *in vitro* показано, что при использовании цитостатических препаратов, таких как доксорубицин, цисплатин, винкристин, цитозинарабиноза и дакарбазин, значительно повышается уровень АФК. Указанное явление сопровождается изменениями активности антиоксидантной системы

и концентраций продуктов перекисного окисления липидов [347], что может приводить к интоксикации, а также повреждению нормальных клеток, тканей и органов [64, 106]. Такие эффекты связаны, прежде всего, с повреждением клеточных мембран [361].

Развитие резистентности к проводимой цитостатической терапии также может быть вызвано стойким окислительным стрессом в опухолевых клетках [263]. Кислородные радикалы повышают устойчивость клеток карциномы молочной железы к химиотерапии за счёт экспрессии в опухолевых клетках Р-гликопротеина, представляющего собой эффлюксную помпу, определяющую множественную лекарственную устойчивость (the multidrug-resistance efflux pump**)** [301].

Одним из перспективных направлений в онкофармакологии является поиск новых соединений, обладающих антигенотоксическими свойствами, под которыми понимают снижение спонтанных и/или индуцированных генотоксических событий. Интересным в этом плане могут быть различные БАВ, обладающие широким спектром биологической активностью. Так, в литературе имеются сведения о том, что курсовое назначение хлорофилла b и хлорофиллина оказывает антигенотоксическое действие [150, 269]. В работе Ponnan A. et al. [277] показано, что использование некрахмального полисахарида фукоидана совместно с 4-нитрохинолин-N-оксидом приводит к значимому снижению количества микроядер, а также фрагментации ДНК в клетках периферической крови и костного мозга мышей. В эксперименте *in vivo* методом ДНК-комет показано, что включение в схему химиотерапии лютеина снижает повреждение генетического материала [358]. Аналогичные эффекты описаны для байкалина, содержащегося в шлемнике байкальском. Так, в эксперименте на мышах показано, что совместное использования экстракта шлемника байкальского как с паклитакселом, так и с цисплатином снижает генотоксические эффекты противоопухолевых препаратов [79].

Проведенный мета-анализ доказывает, что наибольшим антигенотоксическим действием обладают полифенолы. Так, нарингин, содержащийся в

грейпфрутовом соке, на фоне введения амиодарона, бензо(н)пирена, ифосфамида, доксорубицина или афлатоксина B_1, снижает частоту хромосомных аберраций и микроядер, а также частоту повреждения ДНК. Антигенотоксическим действием обладает флавон апигенин, содержащийся в эфирном масле ромашки [38, 39]. На мышах CD1 показано, что однократное пероральное введение полифенола зеленого чая в дозе 30 мг/кг приводит к ослаблению мутагенного действия хрома триоксида [183]. В литературе встречаются сведения о том, что куркумин обладает антигенотоксической активностью в отношении ДНК, поврежденной следующими мутагенами: бензо(н)пирен, этопозид. Авторы исследований связывают такой эффект с антиоксидантным механизмом выраженного защитного действия [268]. Однократное назначение теафлавинов и теарубигинов мышам линии BALB/C на фоне введения бензо(а)пирена приводит к уменьшению эффекта мутагена, причем теафлавин редуцирует эффект мутагена на 28–64%, а теарубигин – на 24–62% [38]. Обнаружена обратная дозовая зависимость антигенотоксической активности при использовании такого полифенола, как ресвератрол. Так, в эксперименте на мышах показано, что трехкратное пероральное использование ресвератрола в меньшей дозе (6,25 мг/кг) приводит к снижению хромосомных повреждений, вызванных такими мутагенами, как митомицин С, диэпоксибутан, прокарбазин. При введении ресвератрола в больших дозах указанный эффект не выявляется [123]. Ярким представителем полифенолов является кверцетин. Литературный анализ демонстрирует, что данное соединение обладает выраженным защитным действием в отношении ДНК. Так, показано, что курсовое введение кверцетина на фоне метатрексата приводит к снижению выхода клеток костного мозга с хромосомными аберрациями [116]. Аналогичные результаты были получены при использовании этого полифенольного соединения с митомицином С и топотеканом [320]. Установлена способность полифенолов взаимодействовать непосредственно с ДНК клеток, что приводит к изменению экспрессии определенных генов [96].

Перспективными источниками природных генопротекторов-полифенолов являются представители родов *Sorbus* и *Aronia,* которые обладают широким спектром фармакологической активности и низкой токсичностью.

1.4 Фармакологические свойства *Sorbus aucuparia* L. и *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott.

Несмотря на прогресс в создании и внедрении синтетических лекарственных средств, препараты природного происхождения продолжают занимать важное место в терапии различных заболеваний благодаря широкому спекру фармакологических эффектов [147]. Мировой фармацевтический рынок ежегодно пополняется новыми фитопрепаратами как в виде цельного растительного сырья, так и в форме выделенных из него биологически активных соединений. Яркими представителями растительных источников с высоким фармакологическим потенциалом выступают рябина обыкновенная (*Sorbus aucuparia* L.) и арония черноплодная (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott.) [135, 291, 292].

Рябина обыкновенная (*Sorbus aucuparia* L.) – листопадное дерево высотой до 20 м, реже – кустарник с неплотной кроной и гладкой серой корой. Листья очередные, непарноперистые, состоят из 9–17 продолговатых остропильчатых листочков. Молодые ветки опушены. Цветки белые, диаметром 8–15 мм, с горько-миндальным запахом, состоят из 5 лепестков, тычинок 20. Цветки собраны на верхушках веток в густые щитковидные соцветия. Плоды шаровидные или овальные, сочные, оранжевые или красные, кислые, терпкие и горьковатые на вкус. При наступлении заморозков горький вкус плодов исчезает. Цветет рябина в мае-июне. Плоды созревают в августе-сентябре и остаются на дереве до глубокой зимы [179].

Рябина обыкновенная произрастает в европейской и сибирской части России, в горных районах Кавказа и Крыма [32]. Местами ее обитания являются хвойно-мелколиственные леса, лесопосадки, заросли кустарников, опушки и прогалины, берега рек и озёр, парки, улицы, дворы, часто разводится как декоративная в парках и садах. Интенсивно ведутся работы по интродукции рябины обыкновенной [96]. Одно растение может дать до 80–100 кг плодов, в которых содержатся макро- и микроэлементы, витамины, дубильные вещества, полифенолы, фосфолипиды и полисахариды [80. 291]. Сырьё «Рябины обыкновенной плоды» включено в Государственную фармакопею Российской Федерации XIV издания [31].

В связи с широким спектром биологически активных веществ (БАВ), для части из которых известны антиоксидантное [153, 292], противодиабетическое, противовоспалительное и сосудопротекторное [368], кардиопротекторное [217], нейропротекторное [239], гепатопротекторное [179] действие, рябина обыкновенная интересна в качестве перспективного источника новых фармакологических средств.

При оценке антиоксидантного потенциала 70% метанольных экстрактов, полученных из соцветий, листьев и плодов *S. aucuparia,* показаны линейные корреляции между значениями антиоксидантной активности и содержанием в растительных комплексах общих фенолов, флавоноидов, проантоцианидинов и изомеров хлорогеновой кислоты. Фенольные соединения являются основными веществами, которые оказывают антиоксидантое действие [280]. В другом исследовании показано, что фенольные экстракты и фракции, полученные из *S. aucuparia,* также обладают антиоксидантной активностью [153]. Доказано, что экстракты, приготовленные из растений рода *Sorbus*, обладают противодиабетическим действием, которое авторы связывают с выраженной антиоксидантной активностью, присущей данным природным источникам [140].

Изучение влияния водного экстракта из рябины обыкновенной на продукцию медиаторов воспаления макрофагами показало, что этот природный

комплекс эффективно снижает экспрессию мРНК, индуцируемую NO-синтазой и циклооксигеназой. Полученный эффект указывает на то, что ингибирование воспаления происходит на уровне транскрипции. Также выявлено, что использование этого экстракта блокирует клеточный сигнальный путь NF-κB путем ингибирования киназы IκBα (IKK), Akt (протеинкиназа B), фосфоинозитид-зависимой киназы 1 (PDK1), фосфоинозитид-3-киназы (PI3K). Механизмом противовоспалительного действия является торможение этого сигнального пути через образование молекулярных комплексов между соединениями, входящими в экстракт, и toll-подобным рецептором TLR4 или MyD88 [354].

Turumtay H. et al. [331] обнаружено, что экстракт из рябины обыкновенной обладает специфическим антимикробным действием в отношении грамотрицательных бактерий.

В эксперименте *in vivo* показано, что экстракт из рябины обыкновенной оказывает протекторное действие при заболеваниях, связанных с эндотелиальной дисфункцией и нарушением вазодилатации [149]. Обнаружено, что назначение аукупарина, выделенного из *S. aucuparia*, приводит к ингибиции индуцированного блеомицином фиброза лёгких у мышей. Так, в образцах лёгких животных, получавших аукупарин, экспрессия генов-маркеров воспаления и активации макрофагов была снижена по сравнению с таковыми у мышей, которым вводили только блеомицин. Более того, использование аукупарина привело к снижению экспрессии генов профибротических маркеров и повышению экспрессии генов антифибротических маркеров. Помимо этого, аукупарин значительно подавлял продукцию трансформирующего фактора роста β [224].

В литературе накоплены данные, свидетельствующие о противоопухолевом потенциале *S. aucuparia*. В частности, этанольный экстракт рябины демонстрирует выраженную цитотоксичность в отношении клеток аденокарциномы толстого кишечника линии Caco-2. Согласно исследованию Bobinaitė R. с соавторами [140], водный экстракт *S. aucuparia* в концентрациях выше

100 мкг/мл дозозависимо подавляет жизнеспособность клеток Caco-2 по данным МТТ-теста, тогда как в тесте SRB на сульфатредуцирующих бактериях аналогичный эффект достигается лишь при концентрациях, превышающих 500 мкг/мл. Кроме того, экстракт рябины, богатый полифенольными соединениями, способен снижать жизнеспособность клеток HeLa приблизительно на 50% [312].

Противоопухолевое действие биологически активных соединений, содержащихся в рябине, реализуется через нарушение пролиферации и индукцию апоптоза опухолевых клеток. Фенольные компоненты *S. aucuparia* способны вмешиваться в регуляцию клеточного цикла, модулируя экспрессию или активность ключевых сигнальных белков, контролирующих процессы пролиферации, дифференцировки и программируемой клеточной гибели. Именно эта способность регулировать внутриклеточные сигнальные каскады, по мнению исследователей, лежит в основе их противоопухолевого потенциала [282, 321].

Угнетение клеточной пролиферации, как правило, обусловлено задержкой клеточного цикла на определенных его этапах. Ключевыми регуляторами продвижения по клеточному циклу выступают циклины (в частности A и B) и циклинзависимые киназы (CDK), образующие активные комплексы. Активность этих комплексов, в свою очередь, контролируется эндогенными ингибиторами CDK (CDKI), такими как p21, WAF1 и p27KIP1. Связывание CDKI с комплексом циклин-CDK приводит к его инактивации и, как следствие, к остановке клеточного цикла. Установлено, что фенольные соединения способны вмешиваться в этот регуляторный механизм. Они индуцируют повышенную экспрессию генов, кодирующих ингибиторы CDK (p21, WAF1, p27KIP1), и одновременно подавляют экспрессию генов циклинов A и B. Результатом такого воздействия становится снижение пролиферативной активности и блокирование клеточного цикла опухолевых клеток в фазах G0/G1 и G2/S [145].

Антоцианиды проявляют способность модулировать клеточный цикл: их воздействие приводит к блоку цикла в фазах G1 или G2, что, в свою очередь, индуцирует апоптоз и подавляет пролиферацию [176].

Одним из ключевых признаков неопластических клеток является утрата способности к нормальной дифференцировке. В связи с этим индукция дифференцировки опухолевых клеток, то есть процесс их превращения в зрелые, нормальные клетки, рассматривается как перспективный подход к терапии [154]. Антоцианы, содержащиеся в *S. aucuparia*, способны стимулировать терминальное созревание опухолевых клеток и тем самым блокировать онкогенез. В частности, цианидин-3-O-β-глюкопиранозид в дозозависимым образом индуцирует дифференцировку клеток острого промиелоцитарного лейкоза человека (линия HL-60), активируя сигнальные пути PI3K и PKC [178].

Способность индуцировать апоптоз в опухолевых клетках линии HL-60 продемонстрирована для антоцианидиновых гликозидов (антоцианов), в частности, дельфинидиновых и цианидиновых производных [198]. Анализ взаимосвязи «химическая структура – биологическая активность» позволил установить, что присутствие гидроксильных групп в B-кольце молекулы антоцианидина значительно усиливает ее проапоптотический потенциал [197].

Что касается антоцианов, выделенных из рябины обыкновенной, предполагается, что их проапоптотическое действие реализуется через активацию JNK-опосредованного сигнального каскада, индуцированного окислительным стрессом. Воздействие антоцианов сопровождается повышением внутриклеточной концентрации активных форм кислорода, которые выступают триггерами JNK-сигнального пути. Это, в свою очередь, приводит к экспрессии гена c-jun и активации эффекторной каспазы-3. Таким образом, антоцианы способны инициировать программу апоптотической гибели опухолевых клеток через окислительный стресс и сопряженный с ним JNK-каскад [199].

Белок-активатор 1 (AP-1) является фактором транскрипции и играет важную роль в стимулировании канцерогенеза [134]. Его активность может

индуцироваться такими сигнальными молекулами, как эпидермальный фактор роста (EGF) и фактор некроза опухоли альфа (TNF-α), которые активируют киназы ERK, JNK или p38. Активация AP-1, в свою очередь, запускает процессы неопластической трансформации клеток [198].

В исследовании Hou D.X. с соавторами [199] было продемонстрировано, что антоцианы способны подавлять транскрипционную активность AP-1 и, как следствие, клеточную трансформацию. Анализ структурно-функциональных взаимосвязей показал, что для реализации ингибирующего эффекта необходимо наличие орто-дигидроксифенильной структуры в B-кольце антоцианидина. Изучение сигнальных путей выявило, что антоцианы блокируют фосфорилирование ERK на ранних этапах, а фосфорилирование JNK – на более поздних сроках после воздействия [197].

Фенольные соединения, присутствующие в рябине обыкновенной, способны не только подавлять опухолевый рост, но и ингибировать процессы инвазии и метастазирования. В частности, на культурах клеток рака молочной железы с гиперэкспрессией ErbB2 (BT474, MDA-MB231, MCF-7) показано, что полифенолы блокируют сигнальные пути ErbB2/cSrc/FAK, играющие ключевую роль в инвазивном потенциале опухоли [228, 350].

Кроме того, антоцианы способны подавлять миграцию клеток, воздействуя на множественные сигнальные мишени. В клетках MCF-10A, стимулированных фактором роста гепатоцитов, антоцианы снижают мембранную транслокацию протеинкиназы PKCα и фосфорилирование STAT3, а также ингибируют ядерную транслокацию NF-κB/p65, что в совокупности приводит к торможению инвазии [155].

Важным аспектом противоопухолевого действия является также подавление ангиогенеза – ключевого процесса, обеспечивающего рост и метастазирование злокачественных новообразований. Ключевым регулятором ангиогенеза выступает фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), поэтому ингибирование его рецептора (VEGFR) рассматривается как эффективная стратегия подавления метастазирования [155, 232]. Установлено, что антоци-

аны рябины способны снижать экспрессию VEGF в гладкомышечных клетках сосудов, блокируя сигнальные пути p38-MAPK и JNK-MAPK [266].

Гипоксия выступает характерным признаком солидных злокачественных опухолей и служит ключевым триггером индукции ангиогенеза. Данный процесс реализуется преимущественно через активацию сигнального пути VEGF, опосредованную фактором, индуцируемым гипоксией (HIF-1α). Подавление экспрессии HIF-1α способно снижать транскрипционную активность его генов-мишеней, в том числе гена VEGF [201]. Экспериментальные данные подтверждают эффективность антоцианов рябины обыкновенной в модуляции этого процесса. В исследовании на крысах с индуцированным раком пищевода применение лиофилизированных антоцианов *S. aucuparia* приводило к снижению экспрессии как HIF-1α, так и VEGF, что в итоге способствовало подавлению опухолевого ангиогенеза [338].

Арония черноплодная **(***Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. – листопадный кустарник сем. *Rosaceae* до 3 м высотой. Ветви продуктивны до 10 лет, возобновление происходит порослью и корневыми отпрысками. Корневая система мочковатая. Листья обратнояйцевидные, пильчатые, (4–8)×(3–5) см, летом – зеленые, осенью – красные; верхняя сторона – глянцевая, нижняя – опушенная. Цветки белые, пятилепестные, в щитковидных соцветиях (5–6 мм). Цветет в мае–июне 12–15 дней. Растение самоопыляемое, устойчиво к заморозкам. Плоды – черные шаровидные ягоды 10–15 мм с сизым налетом, кисло-сладкие, вяжущие, созревают в конце августа – сентябре. Плодоносит с 3–5 лет [69].

Родиой аронии является восток Северной Америки. В Россию интродуцирована в 1935 г. через Алтай, введена в культуру И.В. Мичуриным (рекомендована для северных райнов страны).

Высокая экологическая пластичность аронии черноплодной, обусловленная ее зимостойкостью и неприхотливостью, способствовала широкой интродукции вида практически во всех эколого-географических районах страны, включая зоны, характеризующиеся экстремальными условиями для

возделывания традиционных плодово-ягодных культур. Растение отличается светолюбием и мезотрофностью, демонстрируя низкую требовательность к почвенному плодородию. Репродуктивный потенциал вида реализуется как семенным, так и различными вегетативными способами: размножение возможно вертикальными и горизонтальными отводками, делением куста, корнеотпрысковыми побегами, зелеными черенками, а также прививкой [18].

Исторически сложилось, что растительное сырье *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. традиционно применялось в народной медицине в качестве вяжущего и противопростудного средства [221]. В современной фармацевтической практике плоды аронии черноплодной являются официнальным видом лекарственного сырья, что закреплено в Государственной фармакопее Российской Федерации [28]. Сырье включено в Государственный реестр лекарственных средств (регистрационные удостоверения: на плоды сухие – № 85/301/5, на плоды свежие – № 71/609/16 и № 73/941/24) [32].

Фитохимический состав плодов *A. melanocarpa* отличается сложностью и разнообразием. В них идентифицированы углеводы, органические кислоты, аминокислоты, макро- и микроэлементы, витамины, ароматические соединения, а также широкая группа полифенольных веществ [208]. Следует отметить, что количественное и качественное содержание биологически активных соединений вариабельно и детерминировано комплексом факторов, включая климатические условия произрастания, гранулометрический и химический состав почв, степень зрелости ягод, а также условия сбора и последующего хранения [285, 328].

Анализ данных литературы свидетельствует о том, что полифенольный комплекс и другие биологически активные вещества, локализованные в различных органах аронии черноплодной, характеризуются широким спектром фармакологической активности и низкой токсичностью [267]. Исследования последних лет демонстрируют выраженное влияние данных соединений на иммунный статус организма. В частности, в работе Iwashima T. et al. [204] установлено, что экстракт плодов *A. melanocarpa* подавляет избыточную экс-

прессию мРНК провоспалительных цитокинов (IL-1β и IL-6). Авторами также зафиксировано ингибирующее действие растительного экстракта на сигнальную молекулу IL-6ST (gp130) как на транскрипционном (мРНК), так и на трансляционном (белок) уровнях. Кроме того, экспериментально подтверждено подавление экспрессии мРНК хемокинов CXCL8 (IL-8) и CCL2 (MCP-1), что в совокупности убедительно доказывает наличие иммуномодулирующих свойств у исследуемого экстракта.

Отмечено, что экстракт из аронии оказывает противовоспалительное действие за счёт ингибирования экспрессии мРНК провоспалительных цитокинов (TNF-α, IL-1β, IL-6) в клетках RAW 264.7 [127].

Показано, что длительный приём экстракта из аронии, содержащего 18% антоцианов, оказывает защитное действие на когнитивные функции, а также снижает артериальное давление у пациентов с метаболическим синдромом [124].

В литературе известно о положительном влиянии полифенолов из *A. melanocarpa* на коллаген печени крыс. Так, применение растительного экстракта приводит к торможению изменений в экспрессии коллагена на уровне транскрипции и трансляции, вызванных кадмием. Кроме того, отмечено повышение концентрации металлопротеиназ и тканевых ингибиторов в этом органе [220].

Показано гастропротекторное действие водно-спиртового экстракта из *A. melanocarpa* в условиях этанолиндуцированного повреждения желудка у крыс. Авторы объясняют полученный эффект следующими механизмами: снижение уровня экспрессии MCP-1, MDA, NF-κB и TNF-α, повышение уровня внутренних антиоксидантов (SOD, CAT, GSH-px) и активация IL-4, HSP-70, NO [271].

Для антоцианов, выделенных из плодов *A. melanocarpa*, характерна выраженная гиполипидемическая активность. Результаты многочисленных экспериментальных и клинических исследований свидетельствуют о том, что применение экстрактов аронии черноплодной способствует достоверному

снижению уровня общего холестерина [364], а также оказывает модулирующее действие на сигнальные пути, регулирующие инсулиновую чувствительность, адипогенез и воспалительные реакции [280].

Помимо гиполипидемического действия, установлено нормализующее влияние биологически активных соединений аронии на показатели системы гемостаза. В частности, в работе Sikora J. et al. [306] продемонстрировано, что назначение экстракта черноплодной рябины пациентам со злокачественными новообразованиями приводит к коррекции нарушений гемостатических свойств плазмы крови, способствуя нормализации параметров свертывающей системы.

Накопилось огромное количество данных об антиоксидантных свойствах *A. melanocarpa.* Антиоксиданты аронии представлены в основном витамином С и полифенолами, такими как антоцианы, фенольные кислоты, флаванолы, флавонолы и дубильные вещества [283].

In vitro обнаружено повышение антиоксидантной защиты и снижение уровня активных форм кислорода после инкубации клеток с биологически активными соединениями аронии [211]. Исследования полифенольных соединений, полученных из плодов *A. melanocarpa* показали, что они вызывают отчётливое снижение перекисного окисления липидов плазмы, вызванного зипразидоном *in vitro* [169]. Экстракт из аронии защищает клетки HT22 от гибели, вызванной глутаматом, путём ингибирования генерации активных форм кислорода и притока ионов кальция; кроме того, растительный комплекс восстанавливает активность глутатиона, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и увеличивает потенциал митохондриальной мембраны [283].

Данные об антиоксидантном действии биологически активных веществ аронии *in vivo* ограничены. Kowalczyk E. et al. [219] на модели интоксикации сульфид-2-хлорэтил-3-хлорпропилом у мышей показали, что использование антоцианов аронии может снижать перекисное окисление липидов. Антиоксидантное действие фенольных соединений *Aronia melanocarpa in vivo* не ограничивается прямой инактивацией свободных радикалов, а реализуется

посредством многоуровневого механизма. Согласно данным Dietrich-Muszalska A. et al. [169], в спектр биохимических эффектов данных соединений входят: ингибирование генерации активных форм кислорода и азота, подавление активности прооксидантных ферментов, а также реактивация ключевых компонентов эндогенной антиоксидантной защиты. Кроме того, фенольные комплексы аронии участвуют в регуляции клеточной сигнализации, модулируя экспрессию генов, ответственных за синтез антиоксидантных ферментов и низкомолекулярных антиоксидантов.

В научной литературе накоплены сведения, свидетельствующие о наличии противоопухолевой активности у экстрактов, полученных из различных органов *A. melanocarpa*. Результаты экспериментальных исследований *in vitro* демонстрируют выраженный антипролиферативный эффект данных экстрактов в отношении различных опухолевых клеточных линий. Так, в работе Diaconeasa Z. et al. [168] установлено, что антоциан-обогащенный экстракт из плодов аронии черноплодной ингибирует пролиферацию клеток колоректальной аденокарциномы (HT-29) и меланомы человека. Исследование Hwang E.-S. [203] показало, что 48-часовая инкубация клеток гепатоцеллюлярной карциномы линии SK-Hep1 с экстрактом листьев *A. melanocarpa* приводит к достоверному подавлению их роста. Аналогичный антипролиферативный эффект экстракта листьев аронии был зарегистрирован и на модели клеток промиелоцитарного лейкоза HL60 [310]. Представляется важным отметить, что механизм противоопухолевого действия антоцианов аронии может быть связан с их способностью модулировать эстрогензависимые сигнальные пути. Согласно данным Aiyer H.S. [125], антоциановые соединения из аронии обладают сродством к эстрогеновым рецепторам ERα и ERβ, экспрессируемым в опухолевых клетках. Характер их взаимодействия с рецепторным аппаратом сходен с фармакологическим действием тамоксифена – селективного модулятора эстрогеновых рецепторов, применяемого в клинической практике для терапии гормонозависимых форм рака молочной железы. Проявляют цитотоксическую активность в отношении

клеток Caco-2 экстракты из листьев *A. melanocarpa*, подавляя их пролиферацию. Так, исследователями были отмечены морфологические изменения этих клеток под воздействием растительного комплекса [171].

Фундаментальным механизмом, опосредующим противоопухолевое действие растительных экстрактов, является их модулирующее влияние на протеины – регуляторы клеточного цикла (p53, p21, p27, циклин D1, циклин A), следствием чего выступает ингибирование пролиферации опухолевых клеток [297]. В ряде исследований установлено, что применение антоциан-обогащенного экстракта *A. melanocarpa* подавляет рост различных опухолевых клеточных линий посредством активации циклин-зависимых киназ и супрессии циклиновых белков, контролирующих ключевые контрольные точки (checkpoints) клеточного цикла (G1/S, S, G2/M) [176, 186].

Антоциановые соединения способны инициировать апоптоз в трансформированных клетках по митохондриальному пути. Данный процесс реализуется через высвобождение цитохрома C из митохондрий, активацию каспазного каскада и увеличение соотношения про- и антиапоптотических регуляторных белков (Bax/Bcl-2) [167]. В исследовании Sharif T. et al. [299] продемонстрировано, что сок аронии черноплодной индуцирует в клетках лейкемии человека повышение экспрессии опухолевого супрессора p73 и активной формы каспазы-3, одновременно подавляя экспрессию циклина B1 и эпигенетического регулятора UHRF1. Авторами также зафиксировано значительное снижение потенциала митохондриальной мембраны и последующий выход цитохрома C в цитозоль. Согласно выводам исследователей, ключевыми действующими агентами, ответственными за наблюдаемый эффект, выступают хлорогеновые кислоты, отдельные цианидиновые гликозиды и производные кверцетина [299].

Альтернативный механизм индукции апоптоза антоциан-содержащими экстрактами *A. melanocarpa* связан с модуляцией активности топоизомераз. Ферменты топоизомераза I и II принимают критическое участие в процессе репликации ДНК, обеспечивая раскручивание суперспирализованной моле-

кулы. Ингибирование данных ферментов приводит к блоку репликации и последующей гибели клеток по механизму апоптоза [344]. Экспериментально подтверждено, что экстракт плодов аронии черноплодной снижает активность топоизомераз I и II в клетках колоректальной аденокарциномы HT-29 [172].

Литературные данные свидетельствуют о наличии у *A. melanocarpa* антиметастатических свойств. Установлено, что введение экстракта листьев аронии в культуру клеток гепатоцеллюлярной карциномы человека SK-Hep1 подавляет их миграционную активность и снижает уровень матриксных металлопротеиназ (MMP-2/9) вследствие ингибирования экспрессии мРНК мембранного типа металлопротеиназы MT1-MMP [297].

Важную роль в подавлении метастазирования играет антиангиогенный эффект антоцианов. Данный эффект опосредован супрессией экспрессии фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и его рецепторов на эндотелиальных клетках путем ингибирования сигнального пути STAT3 [204], что препятствует васкуляризации опухоли и распространению метастазов.

Антиинвазивное действие антоцианов реализуется через предотвращение протеолитической деградации коллагена базальной мембраны. Механизм включает снижение экспрессии матриксных металлопротеиназ и урокиназного активатора плазминогена, а также стимуляцию экспрессии их эндогенных ингибиторов – тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы-2 (TIMP-2) и ингибитора активатора плазминогена (PAI) [143].

Актуальным направлением современных исследований представляется оценка эффективности включения препаратов *A. melanocarpa* в схемы химиотерапии злокачественных новообразований. Целесообразность таких исследований обусловлена потенциалом использования биологически активных соединений аронии в качестве адъювантных средств, способных повышать эффективность цитостатической терапии и/или снижать выраженность их токсических эффектов.

Так, Bushmeleva K. et al. [151] показали, что при совместном культивировании клеток линии RPMI-1788 (лимфобластов) с экстрактом из плодов *A. melanocarpa* и циклофосфаном проявляются цитопротекторные свойства растительного комплекса в отношении этих клеток [151].

У онкологических пациентов исходно наблюдается активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), которая существенно усиливается на фоне проведения цитостатической терапии. Развитие побочных эффектов химиотерапии тесно коррелирует с генерацией активных форм кислорода (АФК) и интенсификацией реакций свободнорадикального окисления (СРО), что приводит к оксидативной модификации нуклеиновых кислот, белков и липидов. В частности, метаболиты циклофосфана индуцируют ПОЛ, продукты которого нарушают энергозависимые клеточные процессы [71]. Дисбаланс между продукцией свободных радикалов и активностью эндогенной антиоксидантной системы усугубляет эндогенную интоксикацию и обусловливает повреждение здоровых органов и тканей. Выраженность данных повреждений нередко выступает лимитирующим фактором при принятии решения о возможности продолжения специфической противоопухолевой терапии [85].

Природные антиоксиданты, в частности, флавоноиды и антоцианы, реализуют свое протективное действие посредством прямой инактивации свободных радикалов. Наличие фенольной структуры и гидроксильных групп в углеродных кольцах обеспечивает их взаимодействие с активными кислородными радикалами путем донирования электронов, что препятствует избыточному накоплению последних на клеточных мембранах и купирует деструктивные процессы. Данный механизм способствует стабилизации молекул нуклеиновых кислот [213] и защите ДНК клеток от повреждающего действия интермедиатов и продуктов ПОЛ [65]. Отдельного внимания заслуживает способность полифенольных соединений при переходе в хиноидную форму снижать антиокислительную активность липидов непосредственно в опухолевых клетках, что, вероятно, вносит вклад в уменьшение их жизнеспособности [43].

В экспериментальных и клинических исследованиях накоплены данные, свидетельствующие о способности экстракта аронии черноплодной снижать выраженность побочных эффектов цитостатиков посредством модуляции оксидативного статуса. Так, в работе Pavlova V. et al. [272] продемонстрировано, что применение экстракта *A. melanocarpa* уменьшает токсическое действие доксорубицина за счет снижения интенсивности вызванного цитостатиком оксидативного стресса. Клинически значимые результаты получены при исследовании влияния экстракта аронии на показатели оксидативного стресса у пациенток с метастатическим раком молочной железы (РМЖ). Установлено, что назначение экстракта способствует повышению активности ключевых антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатионредуктазы (ГР) – в плазме крови пациенток как в пред- и послеоперационном периоде, так и на фоне проведения цитостатической терапии. Согласно гипотезе авторов, одним из механизмов ингибирования оксидативного стресса под действием экстракта аронии является снижение уровня гомоцистеина в плазме крови, играющего ключевую роль в инициации процессов ПОЛ [212]. Экспериментальные данные *in vitro* подтверждают способность экстракта аронии модулировать ферментативное звено антиоксидантной защиты. В исследовании D. Rugina (2015) показано, что культивирование β-клеток поджелудочной железы с экстрактом *A. melanocarpa* приводит к достоверному увеличению активности супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы по сравнению с контролем, подвергнутым воздействию прооксидантов.

В связи с вышесказанным, фармакологические свойства *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* позволяют рассматривать эти растения в качестве перспективных источников биологически активных веществ, в частности, антоцианов, для создания на их основе новых препаратов для дополнительной терапии пациентов со злокачественными новообразованиями, как повышающих эффективность химиотерапии, так и корректирующих нарушения кроветворения, вызванные цитостатической терапией.

1.5 Заключение

Химиотерапия остается одним из основных способов лечения злокачественных новообразований, однако ее эффективность далеко не всегда можно считать удовлетворительной. Для повышения противоопухолевого и антиметастатического действия цитостатиков используют различные вещества, среди которых важное место занимают средства природного происхождения.

Кроме того, наряду с опухолевыми, химиотерапия оказывает негативное влияние на здоровые клетки. Наиболее значимым и клинически опасным проявлением токсичности цитостатических препаратов является их угнетающее действие на костномозговое кроветворение. Выраженность миелосупрессии выступает одним из ключевых факторов, детерминирующих продолжительность курса химиотерапии, а также лимитирующих возможность его завершения в полном объеме, что в конечном итоге оказывает непосредственное влияние на эффективность противоопухолевого лечения в целом.

Анемия представляет собой часто встречающееся осложнение как самого злокачественного процесса, так и проводимой противоопухолевой терапии (химио- и лучевой), причем в ходе лечения ее тяжесть нередко усугубляется. Согласно имеющимся данным, снижение концентрации гемоглобина ниже 120 г/л и уменьшение числа эритроцитов менее 4×10^{12}/л оказывает негативное влияние на качество жизни онкологических пациентов, при этом своевременная коррекция анемического синдрома способствует достоверному улучшению данного показателя.

Одной из причин развития анемического синдрома как на фоне развития злокачественных новообразований, так и цитостатической терапии являются повреждения ДНК стволовых кроветворных клеток, а также клеток-предшественников эритропоэза.

В настоящее время на фармацевтическом рынке представлен ряд стимуляторов эритропоэза, применяемых для коррекции гипопластических состояний кроветворения. Однако их клиническое использование нередко

ограничено недостаточной эффективностью либо развитием нежелательных побочных реакций. В этой связи актуальной задачей современной онкофармакологии является поиск и разработка новых соединений, способных избирательно стимулировать эритропоэз в условиях опухолевого роста, а также минимизировать токсическое воздействие цитостатической терапии на эритроидный росток кроветворения без снижения противоопухолевой эффективности лечения.

В литературе накоплен значительный объем экспериментальных и клинических данных, обосновывающих целесообразность включения биологически активных веществ (полисахаридов, алкалоидов, флавоноидов, дубильных веществ, кумаринов и др.) в схемы противоопухолевой химиотерапии. Особого внимания в данном контексте заслуживают антоцианы – соединения, в высокой концентрации содержащиеся в плодах *Sorbus aucuparia* и *Aronia melanocarpa*. Широкий спектр фармакологической активности данных растений хорошо изучен и включает противоопухолевое, антиметастатическое, антиоксидантное и иммуномодулирующее действия, а также способность повышать эффективность химиотерапии. Вместе с тем, анализ литературы свидетельствует об отсутствии систематизированных данных, касающихся влияния антоцианов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* на эритропоэз, угнетенный цитостатиками на фоне развития злокачественных новообразований.

Вышеизложенное послужило основанием для проведения настоящего исследования, целью которого явилось детальное изучение влияния антоциансодержащих комплексов из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* на эффективность химиотерапии, а также экспериментальная оценка возможности их применения в качестве корректоров нарушений эритропоэза, индуцированных цитостатической терапией.

2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Краткая характеристика используемых препаратов

2.1.1 Антоциансодержащие растительные комплексы

В работе исследовались противоопухолевые, антиметастатические свойства 3 образцов антоциансодержащих растительных комплексов: антоциансодержащие комплексы из плодов *S. aucuparia* L., приготовленных на 40% этаноле и 95% подкисленном этаноле, антоциансодержащий комплекс из плодов *A. melanocarpa* (Michx.) Elliott., приготовленный на 95% подкисленном этаноле. Оценка гемостимулирующей, генозащитной активностей была дана 2 образцам: антоциансодержащим комплексам из плодов *S. aucuparia* L. и *A. melanocarpa* (Michx.) Elliott., приготовленным на 95% подкисленном этаноле.

Экспериментальная партия антоциансодержащих растительных комплексов, полученных по оригинальным технологиям, и сведения об их физико-химических свойствах были предоставлены кафедрой фармацевтического анализа СибГМУ (г. Томск) (заведующий – доктор фармацевтических наук, проф. М.В. Белоусов).

***Антоциансодержащие комплексы из плодов Sorbus aucuparia* L.** Для получения антоциансодержащих комплексов, плоды рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L., сем. Rosaceae) заготавливали в окрестностях г. Томска в период их полного созревания, сушили конвекторной сушкой при температуре 40–45 ºС до воздушно-сухого состояния.

Антоциансодержащие комплексы из плодов *S. aucuparia* получали 40% этанолом и 95% подкисленным этанолом методом динамической дробной мацерации. Для их получения использовали лабораторный реактор с паровой рубашкой («Radleys», Германия), подключенный к погруженному циркуляционному блоку регулирования температуры «МО1» («Термэкс», Россия),

верхнеприводной мешалке RZR 2020 («Heidolph», Германия) и шариковому холодильнику. Плоды *S. aucuparia* измельчали до размера частиц диаметром 0,3–0,5 см. Навеску плодов помещали в реактор, добавляли соответствующий этанол и экстрагировали при температуре 80 ºС в течение 60 мин. Полученным извлечением экстрагировали новую порцию сырья. Готовые растительные комплексы отстаивали при температуре не выше +10 ºС не менее 2 сут до получения прозрачной жидкости, затем фильтровали и хранили при температуре не выше +5 ºС в защищенном от света месте. Сухой остаток комплексов определяли с помощью весового влагометра MS-70 («AND», Япония).

Жидкий антоциансодержащий комплекс из плодов *S. aucuparia*, приготовленный на 40% этаноле, представляет собой тягучую жидкость темно-коричневого или бурого цвета со специфическим запахом и кисловато-горьким вкусом; жидкий антоциансодержащий комплекс из плодов *S. aucuparia*, приготовленный на 95% подкисленном этаноле – темно-вишневую жидкость со специфическим фруктовым запахом кисловато-горького вкуса.

Анализ фенольных соединений водно-спиртовых антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* проводили общепринятыми методами. Сумму фенольных и дубильных веществ определяли перманганатометрическим методом с добавлением 1% раствора желатина для осаждения дубильных веществ [114]. Количественное определение флавоноидов проводили спектрофотометрическим методом с использованием комплексообразующей реакции с 5% спиртовым раствором алюминия хлорида [30]. Показания снимали на спектрофотометре СФ-2000 при длине волны 405 нм. Расчет суммы флавоноидов проводили с использованием удаленного показателя поглощения рабочего стандартного образца рутина, установленного экспериментально: 405,64. Определение фенолокислот и антоцианов в исследуемых растительных комплексах проводили методом прямой спектрофотомерии. В качестве стандартных образцов использовали кислоту хлорогеновую (фенолокислоты) и цианидин-3-О-глюкозид (антоцианы). Содержание феноло-

кислот определяли по удельному показателю поглощения ($E_{1см}^{1\%}$) кислоты хлорогеновой, который при длине волны 327,00±2,00 нм составляет 507,00±2,00 нм [50]. Для расчета суммы антоцианов в растительных комплексах использовали удельный показатель поглощения ($E_{1см}^{1\%}$) известного вещества цианидин-3-О-глюкозида, который при длине волны 546,00±2,00 нм составляет 100,00±2,00 нм [45].

Качественный состав фенольных соединений изучали методами хроматографии на бумаге (БХ), в тонком слое сорбента (ТСХ) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Для ТСХ использовали пластинки Merck марки TLCSilicagel 60 F_{254} (Германия) размером 20×20 см. Для хроматографирования флавоноидов использовали систему растворителей – *н*-бутанол: кислота уксусная ледяная: вода (4:1:2). На хроматограмме флавоноиды обнаруживали по характерному свечению в УФ-свете при длине волны 254,00; 365,00 нм и величине R_f до и после обработки хроматограмм 5% спиртовым раствором алюминия (III) хлорида. Для идентификации веществ использовали растворы стандартного рабочего образца рутина, кверцетина, изокверцетина, апигенина, байкалина, скутеллярина, кемпферола, гиперозида, цинарозида, цианидин-3-О-глюкозида (Sigma-Aldrich, США).

Для хроматографирования фенолокислот методами ТСХ и БХ использовали системы – *н*-бутанол: кислота уксусная ледяная: вода (4:1:2), 2 и 15% растворы кислоты уксусной. Хроматограммы просматривали в УФ-свете при длине волны 365 нм до и после обработки 5% этанольным раствором калия гидроксида. Идентификацию фенолокислот проводили сравнением с достоверными образцами галловой, феруловой, кофейной, n-кумаровой, ванилиновой, хлорогеновой, изохлорогеновой, коричной и салициловой кислот (Sigma-Aldrich, США).

Для уточнения различий в качественном составе антоциансодержащих комплексов использовали метод ВЭЖХ. Анализ фенольных соединений методом ВЭЖХ проводили на хроматографе «DionexUltimate 3000», оснащен-

ном УФ-детектором с диапазоном длин волн от 254 до 330 нм. Колонка из нержавеющей стали с обращенно-фазовым сорбентом Restek Pinnacle IIC 18 (150×4,6 мм, с размером частиц 5 мкм), скорость подвижной фазы – 1 мл/мин; температура колонки – комнатная, объем вводимой пробы – 20 мкл. Режим элюирования градиентный. Обработку полученных данных производили с использованием программного обеспечения Chromeleon и Microsoft Office 10.

В таблицах 3, 4 представлены результаты химического и ВЭЖХ анализа фенольных соединений в антоциансодержащих комплексах из плодов *S. aucuparia*, полученных на 40% этаноле и 95% подкисленном этаноле.

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.

Таблица 3 – 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
Антоцианы	0,72±0,04	3,30±0,20
Флавоноиды	0,17±0,01	0,11±0,01
Фенолокислоты	2,59±0,13	2,97±0,15
Дубильные вещества	0,10±0,01	0,19±0,01
Примечание: здесь и в таблице 4 представлены данные исследований д-ра фарм. наук Г.И. Калинкиной, канд. фарм. наук Н.В. Исайкиной		

Таблица 4 – Результаты ВЭЖХ анализа фенольных соединений в антоциансодержащих комплексах (АСК) из плодов *Sorbus aucuparia* L. (время удерживания, мин)

Компоненты	Рабочий стандартный образец	АСК из плодов *S. aucuparia* L. (40% этанол)	АСК из плодов *S. aucuparia* L. (95% подкисленный этанол)
Рутин	13,67	13,83	13,77
Кверцетин	21,61	–	21,61
Изокверцетин	14,37	14,51	–
Апигенин	24,58	24,58	24,59
Байкалин	19,79	19,68	19,62
Кемпферол	23,49	23,60	23,65
Скутеллярин	18,83	18,80	18,77
Хлорогеновая кислота	9,06	9,06	9,06
Феруловая кислота	14,33	14,33	14,22
Коричная кислота	23,38	–	23,38
Салициловая кислота	20,03	–	20,02

Сухой остаток антоциансодержащего комплекса из плодов *S. aucuparia*, полученного на 40% этаноле, составляет 28,50±0,15%, антоциансодержащего комплекса из плодов *S. aucuparia*, полученного на 95% подкисленном этаноле – 14,00±0,22%. Существенная разница сухого остатка в исследуемых растительных комплексах объясняется тем, что 40% этанол извлекает из плодов *S. aucuparia* не только фенольные соединения, но и другие сопутствующие водорастворимые компоненты: белково–полисахаридный комплекс и минеральные вещества.

Содержание цианидин-3-О-глюкозида доводили в каждом исследованном образце антоциансодержащего комплекса из плодов *S. aucuparia,* полученного на 95% этаноле, до 3,30% на сухой остаток в соответствии с Государственной фармакопеей РФ XV издания [29].

***Антоциансодержащий комплекс из плодов Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott**. Для получения жидкого антоциансодержащего комплекса, содержащего комплекс биологически активных веществ, использовали плоды аронии черноплодной (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott., сем.

Rosaceae), культивируемой в окрестностях г. Томска и собранные в период полного созревания. Плоды сушили тепловой конвекторной сушкой при температуре 40–50 ºС до воздушно-сухого состояния.

Антоциансодержащий комплекс из плодов *A. melanocarpa* получали 95% этанолом, содержащим 1% кислоты хлористоводородной концентрированной, методом противоточной многоступенчатой перколяции с законченным циклом. Готовый растительный комплекс отстаивали при температуре не выше +10 ºС не менее 2 сут до получения прозрачной жидкости, фильтровали и хранили при температуре не выше +5 ºС, защищая от света. Сухой остаток антоциансодержащего комплекса определяли с помощью весового влагометра MS-70 («AND», Япония).

Жидкий антоциансодержащий комплекс из плодов *A. melanocarpa,* полученный 95% подкисленным этанолом, представляет собой рубиново-красную жидкость с легким фруктовым запахом терпко-вяжущего вкуса.

Содержание биологически активных веществ (сумма флавоноидов, фенолокисоты, антоцианы, катехины, аскорбиновая кислота, органические кислоты) в растительном комплексе определяли общепринятыми методами [1, 28, 50, 58].

В таблице 5 представлены результаты количественного определения основных групп БАВ в антоциансодержащем комплексе из плодов *A. melanocarpa*, полученном на 95% подкисленном этаноле.

Согласно данным химического анализа фенольных соединений, 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.

Стандартизацию изучаемого растительного комплекса для фармакологического исследования проводили по показателям: сухой остаток – 15,00±0,27%, содержание антоцианов в комплексе – 5,83±0,25%.

Таблица 5 – 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	

Содержание цианидин-3-О-глюкозида доводили в каждом исследованном образце антоциансодержащего комплекса из плодов *A. melanocarpa* до 5,83% на сухой остаток в соответствии с Государственной фармакопеей РФ XV издания [29].

2.1.2 Цитостатические препараты

Циклофосфамид (циклофосфан, ЦФ). В качестве цитостатического агента в работе использовали циклофосфан (Cyclophosphanum) – N-ди-(2-хлорэтил)-N'-О-триметиленовый эфир диамида фосфорной кислоты, гидрат (рисунок 1), относящийся к группе алкилирующих соединений и широко применяемый в клинической онкологии [87]. Токсикологическая характеристика препарата определяется следующими параметрами: величина полулетальной дозы (LD50) при однократном внутрибрюшинном введении для мышей составляет 400 мг/кг, для крыс – 100 мг/кг [95].

Циклофосфан характеризуется широким спектром противоопухолевой активности и относится к числу наиболее часто используемых цитостатических препаратов, входя в состав многочисленных стандартных схем химио-

терапии злокачественных новообразований. Наряду с противоопухолевым действием препарат оказывает выраженное иммуносупрессорное влияние, индуцирует угнетение гемопоэза и способствует активации роста условно-патогенной микрофлоры, включая бактерии и вирусы [55, 56]. Установлено, что выраженность противоопухолевого эффекта циклофосфана находится в прямой зависимости от величины вводимой дозы [955].

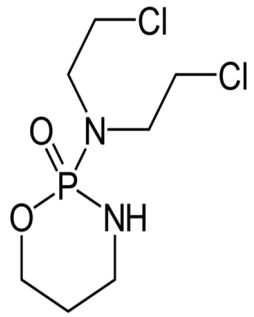

Рисунок 1 – Химическая структура циклофосфамида

В экспериментах использовали циклофосфан, выпускаемый в виде стерильного порошка (ОАО «Биохимик», г. Саранск), помещенного в герметически укупоренные флаконы по 200 мг. Препарат растворяли стерильным физиологическим раствором из ампул заводской фасовки.

Доксорубицин. В работе применялся широко используемый в онкологии цитостатический препарат из группы антибиотиков антрациклинового ряда доксорубицин (Doxorubicin) – (8S-цис)-10-(3-амино-2,3,6-тридезокси-альфа-L-ликсогексо-пиранозил)окси-7,8,9,10-тетра-гидро-6,8,11-тригидрокси -8-(гидроксилацетил)-1-метокси-5,12 нафтацендион (рисунок 2), продуцируемый микроорганизмами *Streptomyces coeruleorubidus* или *Streptomyces peucetius*, также производится полусинтетически из другого антибиотика антрациклинового ряда даунорубицина [121].

Доксорубицин относится к числу противоопухолевых препаратов с широким спектром активности и входит в состав многих стандартных схем химиотерапии злокачественных новообразований различного генеза. Препарат применяется как в режиме монотерапии, так и в комбинации с другими цитостатиками, при этом дозирование варьирует в зависимости от протокола

лечения. Одним из основных лимитирующих факторов клинического использования доксорубицина является его миелосупрессивное действие [2, 121]. Согласно литературным данным, наибольшей чувствительностью к токсическому воздействию данного препарата обладает эритроидный росток кроветворения [26, 41].

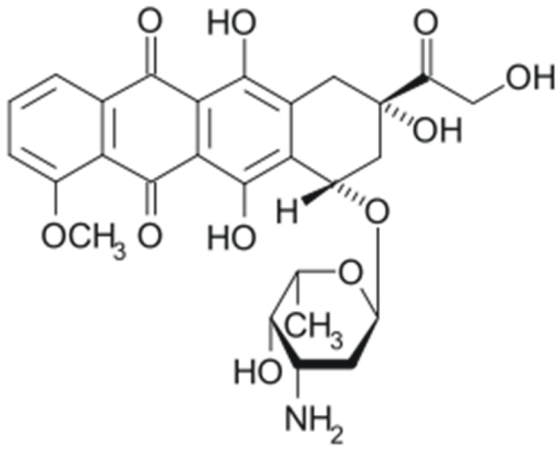

Рисунок 2 – Химическая структура доксорубицина

В экспериментальной части работы использовали доксорубицин (торговое наименование – Адрибластин быстрорастворимый, производитель: Phizer, США), представляющий собой стерильный лиофилизат во флаконах по 50 мг. Растворение препарата осуществляли физиологическим раствором из ампул заводского производства непосредственно перед введением.

2.1.3 Препарат сравнения

Эпоэтин бета (Рекормон, «Ф. Хоффманн-Ля Рош Лтд», Швейцария). В качестве препарата сравнения при оценке эритропоэзстимулирующей активности исследуемых антоциансодержащих комплексов использовали рекомбинантный эритропоэтин человека (торговое наименование – Рекормон). Препарат выпускается в форме раствора для внутривенного и подкожного введения в шприц-тюбиках объемом 0,3 мл, содержащих активное вещество

в дозировках 1000 МЕ и 2000 МЕ. Действующим началом препарата является эпоэтин бета – гликопротеид, состоящий из 165 аминокислотных остатков. Данное соединение, полученное методом генной инженерии, по аминокислотному и углеводному составу полностью идентично эндогенному эритропоэтину человека [160]. Выступая в роли митогенного фактора и гормона дифференцировки, эпоэтин бета стимулирует эритропоэз на уровне частично детерминированных клеток-предшественников, способствуя их пролиферации и последующей дифференцировке в зрелые эритроциты. Фармакологические эффекты эпоэтина бета реализуются независимо от пути введения (внутривенно или подкожно) и проявляются увеличением числа эритроцитов и ретикулоцитов в периферической крови, повышением концентрации гемоглобина, а также ускорением включения железа в клетки-мишени. Важной характеристикой препарата является специфичность его действия: эпоэтин бета избирательно стимулирует эритроидный росток кроветворения, не оказывая влияния на лейкопоэз [159].

2.1.4 Схемы введения препаратов

Циклофосфан использовали в экспериментах по изучению влияния антоциансодержащих растительных комплексов на динамику роста перевиваемых опухолей, эффективность цитостатической терапии, а также на показатели периферической крови и костномозгового кроветворения. Препарат вводили однократно внутрибрюшинно на 10 сут после трансплантации опухолевого материала (LLC, РЛ-67, В-16) в дозе 125 мг/кг, которая обеспечивает умеренное ингибирование роста первичной опухоли и процесса метастазирования.

Доксорубицин назначали при исследовании противоопухолевой, антиметастатической, гемостимулирующей, генопротекторной активностей антоциансодержащих растительных комплексов. Препарат вводили однократно

внутрибрюшинно животным как без опухоли, так и с LLC на 10 сут после трансплантации опухоли в максимально переносимой дозе (МПД) – 6 мг/кг, вызывающей как цитостатический анемический синдром, так и умеренное торможение роста опухоли и метастазов у мышей с карциномой лёгких Льюис.

В исследовании *in vivo* антоциансодержащие комплексы (АСК) из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* использовались в дозах 1 и 5 мл/кг. АСК деалкоголизировали на водяной бане, доводили до прежнего объёма дистиллированной водой и начинали вводить внутрижелудочно через 24 ч после инъекции доксорубицина ежедневно в течение 14 сут (животные без опухоли), 9 сут (животные с LLC). Животных с LLC, РЛ-67, В-16 в условиях однократного введения циклофосфана начинали лечить растительными комплексами через 7 сут после перевивки, ежедневно в течение 13 сут.

В качестве препарата сравнения для АСК был выбран рекормон, который вводили животным подкожно в дозе 10 Ед/мышь, начиная с 9 сут после перевивки опухоли в течение 5 сут.

Животные контрольных групп получали эквиобъёмное количество дистиллированной воды зондом в желудок ежедневно и физиологический раствор внутрибрюшинно в день введения цитостатика.

В экспериментах *in vitro* клетки костного мозга здоровых животных культивировали с антоциансодержащими комплексами в концентрациях 30, 150 и 300 мкг/мл. Концентрации были выбраны согласно анализу литературных данных [133, 251].

2.2 Экспериментальные животные

Исследование выполнено на 1410 мышах-самках линии C57Bl/6 массой 18–20 г. Выбор данной линии обусловлен ее генетической гомогенностью, что при соблюдении стандартизированных условий содержания обеспечивает

воспроизводимость экспериментальных эффектов, высокую прививаемость опухолевого материала, равномерный рост новообразований и минимальную частоту спонтанной регрессии трансплантированных опухолей [99].

Животные относились к I категории (конвенциональные мыши) и были получены из отдела экспериментального биомоделирования НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ (сертификат качества № 188-05). Содержание, кормление, уход и все экспериментальные манипуляции осуществляли в соответствии с протоколом, одобренным Этическим комитетом НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга (протокол № 196012022). Исследование проводили с соблюдением международных требований, изложенных в Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей [174].

Условия содержания. Животных содержали в условиях неполной барьерной системы в пластиковых клетках (Tecniplast, Италия) по 5–10 особей в каждой. В качестве подстилочного материала использовали стерилизованную мелкую древесную стружку лиственных пород деревьев. Животные имели свободный доступ к воде и корму.

Параметры микроклимата в виварии соответствовали установленным нормативам: температура воздуха – 20–24 °С; относительная влажность – 50 ± 20%; кратность воздухообмена – 12–15 объемов помещения в час (с подачей воздуха через фильтр грубой очистки); световой режим – 12 ч свет / 12 ч темнота; уровень шума – 50–55 дБ; освещенность – 300–350 лк.

Кормление осуществляли полнорационным гранулированным комбикормом с минеральными и витаминными добавками, соответствующим требованиям ГОСТ Р 50258-92, ГОСТ Р 51849-2001 (с изм. № 1, п. 5, п. 7), а также Ветеринарно-санитарным нормам и требованиям к качеству кормов для непродуктивных животных (№ 13-7-3/1010 от 15.07.97 с изменениями № 13-5-2/1600 от 06.05.99).

Адаптация и проведение экспериментов. Перед началом исследований все животные проходили карантин в условиях вивария в течение 7 сут. С це-

лью минимизации влияния суточных биоритмов на метаболические процессы все экспериментальные процедуры (введение препаратов, забор материала) проводили в фиксированное время суток – с 9 до 15 ч. Исследования выполняли в осенне-зимний и зимне-весенний периоды. Общая организация экспериментов соответствовала рекомендациям, изложенным в «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [100].

В таблице 6 представлено распределение животных по сериям экспериментов.

Таблица 6 – Распределение животных по сериям экспериментов

Цель исследования	Количество животных	Вид, линия и пол животных
1. Влияние антоциансодержащих растительных комплексов на развитие перевиваемых опухолей, эффективность цитостатической терапии и показатели периферической крови		
1.1 Карцинома легких Льюис	60	Мыши-самки C57Bl/6
Антоциансодержащий комплекс из *Sorbus aucuparia* L. (экстрагент 40% этанол)		
Антоциансодержащий комплекс из *Sorbus aucuparia* L. (экстрагент 95% этанол)	60	
Антоциансодержащий комплекс из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (экстрагент 40% этанол)	60	
Антоциансодержащий комплекс из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (экстрагент 95% этанол)	60	
1.2 Рак легкого-67		
Антоциансодержащий комплекс из *Sorbus aucuparia* L. (экстрагент 95% этанол)	60	
Антоциансодержащий комплекс из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (экстрагент 95% этанол)	60	
1.3 Меланома B-16		
Антоциансодержащий комплекс из *Sorbus aucuparia* L. (экстрагент 95% этанол)	60	
Антоциансодержащий комплекс из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (экстрагент 95% этанол)	60	

Цель исследования	Количество животных	Вид, линия и пол животных
2. Реакции системы крови на введение доксорубицина животным без опухоли при использовании антоциансодержащих растительных комплексов		
2.1 Антоциансодержащий комплекс из *Sorbus aucuparia* L. (экстрагент 95% этанол) 2.2 Антоциансодержащий комплекс из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (экстрагент 95% этанол)	78 78	Мыши-самки C57Bl/6
3. Разработка новой биологической модели умеренного торможения роста опухоли и метастазов у животных с карциномой легких Льюис с сопутствующим доксорубицин-индуцированным анемическим синдромом		
3.1 Изучение влияния доксорубицина в дозе 6 мг/кг на развитие карциномы лёгких Льюис и показатели периферической крови у мышей с опухолью	20	Мыши-самки C57Bl/6
4. Влияние антоциансодержащих растительных комплексов на эффективность химиотерапии и реакции системы крови у мышей с карциномой лёгких Льюис при введении доксорубицина		
4.1 Антоциансодержащий комплекс из *Sorbus aucuparia* L. (экстрагент 95% этанол) 4.2 Антоциансодержащий комплекс из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (экстрагент 95% этанол)	110 110	Мыши-самки C57Bl/6
5. Механизмы антианемического действия антоциансодержащих растительных комплексов		
5.1 Коррекция доксорубицин-индуцированного анемического синдрома с помощью антоциансодержащих растительных комплексов в сравнении с рекормоном у мышей с карциномой лёгких Льюис		Мыши-самки C57Bl/6
5.1.1 Применение антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. для коррекции доксорубицин-индуцированного анемического синдрома в сравнении с рекормоном у мышей с карциномой лёгких Льюис	107	
5.1.2 Применение антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. для коррекции доксорубицин-индуцированного анемического синдрома в сравнении с рекормоном у мышей с карциномой лёгких Льюис	107	
5.1.3 Роль гуморальных регуляторов восстановления эритропоэза при цитостатической миелосупрессии под влиянием приготовленных на 95% этаноле антоциансодержащих комплексов из *Sorbus aucuparia* L. и *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. у животных с карциномой лёгких Льюис	10	

Цель исследования	Количество животных	Вид, линия и пол животных
5.2 Коррекция генотоксических свойств доксорубицина с помощью антоциансодержащих растительных комплексов		Мыши-самки C57Bl/6
5.2.1 Применение антоциансодержащих растительных комплексов для коррекции генотоксических свойств доксорубицина, регистрируемых методом учета хромосомных аберраций в клетках костного мозга мышей без опухоли	90	
5.2.2 Применение антоциансодержащих растительных комплексов для коррекции генотоксических свойств доксорубицина, регистрируемых методом ДНК-комет в клетках костного мозга мышей без опухоли	60	
5.2.3 Применение антоциансодержащих растительных комплексов для коррекции генотоксических свойств доксорубицина, регистрируемых методом учета хромосомных аберраций в клетках костного мозга мышей с карциномой лёгких Льюис	90	
5.2.4 Применение антоциансодержащих растительных комплексов для коррекции генотоксических свойств доксорубицина методом ДНК-комет в клетках костного мозга мышей с карциномой лёгких Льюис	60	
5.3 Влияние антоциансодержащих растительных комплексов на элементы гемопоэзиндуцирующего микроокружения *in vitro*	10	

2.3 Характеристика опухолевых штаммов и методы перевивки опухолей

Карцинома лёгких Льюис (LLC) В работе использовали карциному легких Льюис (Lewis lung carcinoma – LLC) – экспериментальную опухолевую модель, возникшую спонтанно как карцинома легких у мышей линии C57Bl/6 в 1951 г. [319]. Штамм опухоли перевивается на 12–14-е сут роста. Средняя продолжительность жизни животных-опухоленосителей после трансплантации составляет 24 сут. Для LLC характерен гематогенный путь

метастазирования с преимущественным поражением легких, частота метастазирования приближается к 100% [100, 101]. Данная опухолевая модель представляет особую ценность для доклинических исследований в связи с тем, что по спектру чувствительности к цитостатическим препаратам LLC наиболее близка к солидным опухолям человека. Введение карциномы легких Льюис в экспериментальную практику позволило проводить адекватный скрининг веществ с потенциальной антиметастатической активностью [110, 192].

Трансплантацию LLC проводили гомогенатом опухолевой ткани в стерильном физиологическом растворе: животных-доноров умерщвляли дислокацией шейного отдела позвоночника, вырезали кусочки опухоли без некротических участков, измельчали через пресс-измельчитель, опухолевую массу помещали в стерильный стеклянный флакон, разводили физиологическим раствором до концентрации 10–20% и разбивали шприцем с толстой иглой. После фильтрации через фильтр клетки опухоли подсчитывали под микроскопом в камере Горяева [25] и разводили до необходимого количества физиологическим раствором. Далее взвесь вводили внутримышечно по $5 \cdot 10^6$ или $1 \cdot 10^6$ опухолевых клеток в объёме 0,1 мл в мышцу левой задней лапы животного-реципиента [100, 101].

Рак лёгкого-67 (РЛ-67). Опухоль, возникшая спонтанно у мыши A/He как аденокарцинома (1975), метастазирует по лимфогенному и гематогенному типу. Средняя продолжительность жизни мышей – 30 сут.

Перевивку РЛ-67 проводили опухолевой взвесью в физиологическом растворе по $5 \cdot 10^6$ клеток в объеме 0,1 мл в мышцу левой задней лапы животного-реципиента. Протокол подготовки взвеси опухолевых клеток был аналогичен протоколу трансплантации карциномы лёгких Льюис [100, 101].

Меланома B-16 (B-16) возникла спонтанно в коже мыши линии C57BL/6 около глаза (1954). B-16 перевивается мышам линии C57BL/6, BDF1 и F1 (CBA × C57BL/6) подкожно или внутримышечно на 16–20 сут роста.

Средняя продолжительность жизни животных – 30–40 сут. Опухоль метастазирует преимущественно гематогенно в лёгкие [110, 170].

Для перевивки животных-доноров умерщвляли дислокацией шейного отдела позвоночника, в стерильных условиях удаляли кожный лоскут с поверхности опухолевого узла, вскрывали опухолевую капсулу, пастообразную опухолевую массу помещали в стерильный стеклянный флакон, разводили физиологическим раствором до концентрации 10–20% и разбивали шприцем с толстой иглой. После фильтрации через фильтр клетки опухоли подсчитывали под микроскопом в камере Горяева [25] и разводили до необходимого количества физиологическим раствором. В экспериментах использовали перевивку по $5 \cdot 10^6$ опухолевых клеток в 0,1 мл в мышцу левой задней лапы животного-реципиента.

2.4 Оценка противоопухолевой и противометастатической эффективности применяемых лечебных воздействий

Торможение роста опухоли (ТРО, %) вычисляли по формуле (1)

$$\text{ТРО} = \frac{\text{A} - \text{B}}{\text{A}} \cdot 100, \qquad (1)$$

где А – средняя масса опухоли в контрольной группе; В – средняя масса опухоли в опытной группе [110].

В некоторых экспериментах в динамике (12, 15, 17, 19, 20 сут после перевивки LLC) производили измерение объёма опухоли и вычисляли по формуле (2)

$$\frac{(a \cdot b)^2}{2}, \qquad (2)$$

где a – длина опухолевого узла; b – ширина опухолевого узла.

Для оценки развития процесса гематогенного метастазирования использовали следующие критерии:

1) частоту метастазирования (ЧМ) опухоли вычисляли в процентах (по отношению числа животных с метастазами к общему количеству животных в группе);

2) определяли среднее количество метастазов у одного животного в группе. Среднюю площадь метастатического поражения высчитывали по формуле $S = \pi r^2$, определяя при этом диаметр метастазов, учитывая, что при использовании карциномы лёгких Льюис метастазы располагались преимущественно субплеврально [170];

3) индекс ингибирования метастазирования (ИИМ, %) – интегральный показатель, позволяющий оценить величину различия в метастазировании опухоли между контролем и опытом, вычислялся по формуле

$$\text{ИИМ} = \frac{(A_1 \cdot B_1) - (A_2 \cdot B_2)}{(A_1 \cdot B_1)} \cdot 100, \qquad (3)$$

где A_1 – частота метастазирования в контрольной группе; A_2 – частота метастазирования в опытной группе; B_1 – среднее количество метастазов у животных контрольной группы; B_2 – среднее количество метастазов у животных опытной группы [3].

Животных выводили из эксперимента с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» [100]. Эвтаназию осуществляли путем дислокации шейного отдела позвоночника либо с использованием CO_2-камеры. После эвтаназии проводили вскрытие, ревизию внутренних органов, а также выделение и макроскопическую оценку первичной опухоли и метастатических очагов. Эффективность проведенных курсов лечения оценивали по противоопухолевому и противометастатическому действию препаратов у мышей на 21 сут опыта.

Критериями оценки противоопухолевого и противометастатического действия изучаемых соединений является их способность эффективно ингибировать процесс спонтанного метастазирования перевиваемых опухолей при внутримышечной их перевивке в присутствии первичного опухолевого

узла (на 35–75%), а также достоверно повышать эффективность химиотерапевтического лечения при тестировании на моделях спонтанного метастазирования опухолей [101].

2.5 Оценка активности препаратов, избирательно стимулирующих гемопоэз

2.5.1 Определение показателей периферической крови

Оценку состояния системы крови проводили на автоматическом ветеринарном гематологическом анализаторе Mythic 18 vet («Orphee», Швейцария) в следующие сроки: у интактных животных – для определения фоновых значений (0 сут); у мышей, получавших цитостатик, – на 3, 5, 7, 10, 12 и 15 сут после его введения. В пробах цельной крови определяли: количество эритроцитов, тромбоцитов, общее количество лейкоцитов, абсолютное содержание гранулоцитов, лимфоцитов и моноцитов, концентрацию гемоглобина, гематокрит.

2.5.2 Техника окраски мазка для подсчета ретикулоцитов. Подсчет ретикулоцитов в мазке крови

Ретикулоциты подсчитывали в мазках крови, окрашенных суправитально бриллианткрезиловым синим. Краситель (насыщенный раствор в абсолютном спирте, 1,2 г/100 мл) предварительно наносили на обезжиренные предметные стекла и равномерно распределяли. Поверх подсохшего слоя красителя делали тонкий мазок крови, помещали стекла во влажную камеру на 3–5 мин, затем высушивали на воздухе. Микроскопию проводили с иммерсионной системой (×90). Эритроциты имели желто-зеленое окрашивание,

ретикулоциты (клетки с зернисто-сетчатой субстанцией) – голубое. Учитывали количество ретикулоцитов на 1000 эритроцитов [68].

2.5.3 Методы морфологического исследования костного мозга

Костный мозг выделяли из бедренной кости мышей, промывая центральный канал 3% раствором уксусной кислоты (1 мл). Суспензию клеток ресуспендировали через иглы разного диаметра. Общее количество миелокариоцитов подсчитывали в камере Горяева. Для приготовления мазков костный мозг выдавливали на обезжиренное стекло, разводили аутологичной сывороткой и распределяли шлифовальным стеклом. Мазки фиксировали раствором Май-Грюнвальда (3–5 мин) и окрашивали азур II-эозином по методу Нохта – Максимова (20 мин) [25]. Миелограмму анализировали на 400 клеток с последующим расчетом абсолютного содержания клеточных элементов по росткам гемопоэза.

Ускоренное восстановление клеточности костного мозга с последующим возрастанием зрелых клеток и уровня гемоглобина, гематокрита на 15% в периферической крови после введения изучаемого вещества на фоне цитостатической миелосупрессии следует рассматривать как проявление гемостимулирующего эффекта у исследуемого препарата [100].

2.6 Методы изучения механизмов антианемического действия препаратов

2.6.1 Выделение клеток костного мозга мышей для работы в культуре

Костный мозг мышей выдували из бедренной кости 0,5 мл препаративной среды следующего состава: 90% ДМЕМ-LG («Sigma», США), 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) («Sigma», США), пенициллин/стрептомицин – 100 U/ml/ 100 mg/ml («Sigma», США). Далее клетки отмывали центрифугированием при 1500 об/мин, надосадочную жидкость заменяли препаративной средой и подсчитывали общее количество миелокариоцитов [25].

2.6.2 Определение жизнеспособности миелокариоцитов

30 мкл суспензии исследуемых клеток смешивали с равным объемом 0,4% раствора трипанового синего («Serva», Германия) и переносили в камеру Горяева, подсчитывали число жизнеспособных (неокрашенных) и мертвых (окрашенных) миелокариоцитов на 100 клеток [25].

2.6.3 Фракционирование костного мозга

Суспензию костномозговых клеток инкубировали в течение 60 мин в препаративной среде, содержащей 90% ДМЕМ-LG («Sigma», США), 10 % ЭТС («Sigma», США), пенициллин/стрептомицин – 100 U/ml/ 100 mg/ml («Sigma», США) в пластиковой чашке Петри диаметром 46 мм при 37 ºС, 5% CO_2 и 100% влажности для выделения адгезирующей фракции миелока-

риоцитов, осторожно собирали среду из чашки и дважды отмывали средой не прилипшие при инкубации клетки [25].

2.6.4 Клонирование прекурсоров эритропоэза *in vitro*

Полученные в результате фракционирования костного мозга жизнеспособные неадгезирующие миелокариоциты доводили до концентрации $2 \cdot 10^5$ клеток в 1 мл полувязкой культуральной среды – 80% RPMI-1640 («Sigma», США), 19% инактивированной ЭТС («Sigma», США), 1% метилцеллюлозы («Sigma», США), 280 мг/мл L-глутамина («Sigma», США), 50 мг/л гентамицина («Serva», Германия), 0,5 Ед/мл рекомбинантного эритропоэтина («Sigma», США). По 0,5 мл приготовленной клеточной взвеси помещали в 24-луночные планшеты («Corning», США), культивировали в течение 3 сут в CO_2 инкубаторе («BioSan», Латвия) при 37 °С, 5% CO_2 и 100% влажности. После инкубации с помощью инвертированного микроскопа (Carl Zeiss, Германия) 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 [25].

Увеличение количества колониеобразующих единиц является признаком активации глубокого резерва кроветворения.

2.6.5 Определение интенсивности созревания кроветворных клеток-предшественников эритропоэза

Интенсивность созревания кроветворных прекурсоров определяли по величине индекса созревания (отношение числа кластеров к количеству колоний, выросших в той же лунке).

2.6.6 Способ получения кондиционной среды клеток костного мозга

Суспензию клеток костного мозга ($5 \cdot 10^6$/мл) фракционировали по адгезивной способности (2 ч, 37 °С). Для получения кондиционной среды адгезирующих клеток неприлипающие элементы удаляли, а прилипающие клетки инкубировали 24 ч в полной среде (RPMI-1640 с 10% ЭТС, 2 мМ L-глутамина, 50 мг/л гентамицина). Для получения кондиционной среды неадгезирующих клеток, напротив, удаляли адгезировавшую фракцию, концентрацию неприлипающих клеток доводили до $2 \cdot 10^6$/мл и инкубировали 24 ч в той же среде. По окончании инкубации кондиционные среды собирали и хранили при –26 °С не более месяца [25].

2.6.7 Способ получения сыворотки периферической крови

Забор крови у мышей осуществляли после эвтаназии (CO_2-асфиксия). Область шеи животного освобождали от шерсти, последовательно обрабатывали спиртовым раствором йода и 70% этанолом. Декапитацию проводили с использованием стерильных ножниц. Кровь собирали в центрифужные пробирки объемом 10 мл через стеклянную воронку. Для отделения сгустка от стенок пробирки его аккуратно обводили стеклянной палочкой. Пробирки выдерживали при температуре 4 °С в течение 30–60 мин для завершения процесса ретракции сгустка. Центрифугирование осуществляли при 3000 об/мин в течение 10–15 мин. Надосадочную жидкость (сыворотку) отбирали, контролируя отсутствие гемолиза эритроцитов (пробы с признаками гемолиза выбраковывали). Полученную сыворотку разделяли на аликвоты объемом 1,5–2 мл в микроцентрифужные пробирки. При необходимости стерилизацию проводили методом фильтрования через мембранный фильтр с диаметром пор 0,22 мкм. Образцы хранили при температуре –20 °С не более 2–4 месяцев [25].

2.6.8 Метод определения эритропоэтической активности кондиционной среды клеток костного мозга и сыворотки периферической крови

Тестирование эритропоэтической активности проводили микрометодом в 96-луночных пластиковых планшетах («Corning», США). В каждую лунку вносили по 0,05 мл супернатантов от прилипающих или неприлипающих клеток костного мозга, а также сыворотки периферической крови, добавляли 0,15 мл взвеси жизнеспособных интактных миелокариоцитов (10^5 клеток/мл) в полувязкой культуральной среде, состоящей из 90% среды RPMI-1640 («Sigma», США), 20% инактивированной ЭТС («Sigma», США), 1% метилцеллюлозы («Sigma», США), 280 мг/мл L-глутамина («Sigma», США), 50 мг/л гентамицина («Serva», Германия). Культивировали в течение 3 сут в CO_2 инкубаторе («BioSan», Латвия) при 37 °С, 5% CO_2 и 100% влажности. Эритропоэтическую активность выражали количеством выросших эритроидных колоний.

2.6.9 Иммуноферментный метод оценки уровня эритропоэтина в кондиционной среде клеток костного мозга и сыворотке периферической крови

Концентрацию эритропоэтина в сыворотке крови и кондиционных средах клеток костного мозга определяли методом твердофазного ИФА с использованием наборов Cloud-Clone Corp. (США) согласно инструкции производителя. Краткий протокол: в лунки планшета с иммобилизованными антителами вносили стандарты, контроли и образцы; инкубировали 1 ч; после отмывки добавляли конъюгат (30 мин); затем вносили субстрат (10–20 мин); реакцию останавливали стоп-реагентом. Оптическую плотность измеряли на планшетном спектрофотометре в течение 30 мин. Концентрацию

ЭПО рассчитывали по калибровочной кривой. Чувствительность метода – 2,68 пг/мл.

2.7 Оценка мутагенных свойств препаратов

2.7.1 Метод учета аберраций хромосом в клетках костного мозга мышей

Подготовка препаратов метафазных хромосом. Для накопления метафазных пластинок мышам за 1,5 ч до окончания эксперимента внутрибрюшинно вводили 0,025% раствор колхицина из расчета 0,01 мл на 1 г массы тела. Эвтаназию животных осуществляли методом дислокации шейных позвонков. Костный мозг выделяли из бедренной кости путем вымывания в центрифужные пробирки, содержащие 5 мл 0,56% раствора калия хлорида (гипотонический раствор). Пробирки помещали в термостат на 30 мин при 37 °С для гипотонической обработки, затем центрифугировали при 1000 об/мин в течение 5 мин. Надосадочную жидкость удаляли, края пробирок осушали фильтровальной бумагой. На осадок осторожно наслаивали свежеприготовленный фиксатор (смесь ледяной уксусной кислоты и метанола в соотношении 1:3), доводили объем до 1 мл и оставляли при комнатной температуре на 1–2 мин. Фиксатор заменяли, после чего клетки выдерживали в холодильнике до 30 мин. Процедуру фиксации с заменой фиксатора повторяли трехкратно, каждый раз ресуспендируя осадок и центрифугируя при указанных условиях. Полученную клеточную суспензию наносили каплями на охлажденные предметные стекла. Препараты окрашивали азур II-эозином в течение 40 мин.

Анализ цитогенетических показателей. В каждой группе от каждого животного анализировали 50–100 метафазных пластинок. Для анализа отбирали интактные клетки округлой формы с хорошо разбросанными хромосомами, без наложений, с модульным числом 40 (диплоидный набор). В ходе

цитогенетического анализа оценивали следующие параметры: долю поврежденных метафазных пластинок (в процентах); частоту клеток с увеличенным набором хромосом (полиплоидные и тетраплоидные метафазы, характеризующиеся округлой формой, хорошим разбросом хромосом и отсутствием наложений); количество аберрантных хромосом на 100 клеток. Среди структурных нарушений хромосом регистрировали: одиночные и парные фрагменты; хромосомные обмены; клетки с множественными аберрациями. В качестве дополнительного критерия цитогенетической активности исследуемых соединений учитывали клетки с разрывами по центромере (центромерные разрывы) и клетки с пробелами.

Доказательством цитогенетической активности исследуемого соединения является статистически значимое превышение доли клеток с хромосомными аберрациями в исследуемых цитогенетических препаратах по сравнению с контролем [100].

2.7.2 Метод ДНК-комет

Получение клеточной суспензии. После эвтаназии животного бедренную кость выделяли максимально быстро для предотвращения искажения результатов, обусловленного длительными постмортальными манипуляциями. Эпифизы кости удаляли, клетки костного мозга вымывали из диафиза 2 мл охлажденного до 4 °С фосфатно-солевого буфера (PBS), содержащего 20 мМ EDTA-Na_2 и 10% ДМСО (pH 7,5). Пробирки с полученной суспензией выдерживали 5 мин при комнатной температуре для осаждения крупных фрагментов, после чего 1,5 мл верхнего слоя переносили в новую пробирку.

Приготовление микропрепаратов. К 60 мкл клеточной суспензии добавляли 240 мкл 0,9% раствора легкоплавкой агарозы (температура плавления <42 °С) в PBS, предварительно нагретого до 42 °С в микротермостате «Термит», и тщательно ресуспендировали. По 60 мкл полученной смеси

наносили на предметные стекла, предварительно покрытые 1% универсальной агарозой, накрывали покровным стеклом и помещали на лед для затвердевания (≈10 мин). Все последующие операции проводили в затемненном помещении при желтом свете для предотвращения фотоиндуцированных повреждений ДНК.

Лизис клеток. После удаления покровных стекол микропрепараты помещали в стеклянную кювету (тип Шиффендекер), заливали охлажденным до 4 °С лизирующим буфером (10 мМ Tris-HCl [pH 10), 2,5 М NaCl, 100 мМ EDTA-Na_2, 1% Triton X-100, 10% ДМСО) и инкубировали не менее 1 ч.

Щелочной электрофорез. По окончании лизиса микропрепараты переносили в камеру для электрофореза (Sub Cell GT, Bio-Rad), заполненную щелочным буфером (300 мМ NaOH, 1 мМ EDTA-Na_2, pH >13). Препараты инкубировали в буфере 20 мин для реализации щелочно-лабильных сайтов и денатурации ДНК. Электрофорез проводили в течение 20 мин при напряженности поля 1 В/см и силе тока ~300 мА.

Фиксация. После завершения электрофореза микропрепараты фиксировали в 70% растворе этилового спирта в течение 15 мин.

После фиксации микропрепараты высушивали, затем микроскопировали. Непосредственно перед микроскопированием проводилась их окраска флуоресцирующим красителем SYBR Green I (Sigma-Aldrich, США) (1:10000 в ТЕ-буфере с 50% глицерином) в течение 20 мин в темноте. Анализ проводился на флуоресцентном микроскопе (Микромед 3 Люм, Россия), совмещенном с цифровой камерой высокого разрешения, при увеличении ×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 [100]. С каждого микропрепарата проанализировано 100 клеток.

Критерием положительного результата является статистически достоверное увеличение показателя поврежденности ДНК при одном из сроков экспозиции или статистически достоверный, воспроизводимый эффект по крайней мере для одной экспериментальной точки. Полученный положительный результат свидетельствует о том, что исследуемое соединение проявляет *in vivo* ДНК-повреждающее действие в данном органе-мишени.

2.8 Молекулярный докинг

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 осуществлялся с помощью программы MVD, пространство определяли в виде сферы с радиусом центра, равном 10 Å. При докинге боковые цепи всех аминокислотных остатков рецептора в пределах соответствующей сферы рассматривались как гибкие. Гибкие остатки обрабатывались с настройками по умолчанию инструмента «Setup Sidechain Flexibility» в MVD, пара-

метр смягчения 0,7 был применен, согласно стандартному протоколу 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 [166]. Раздел RosettaLigand является частью программного пакета Rosetta, обеспечивающий анализ соединений, а также прогнозирование структуры изучаемого комплекса белок-лиганд [226]. Молекулярный докинг позволяет оценить прочность взаимодействия рецептор-белок внутри заданного пространства с установленным центром связывания, опираясь на идентификацию низкоэнергетических комплексов. 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).

2.9 Статистическая обработка результатов

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 выборке 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 груп-

пами считали достоверными при $P<0,05$. Результаты выражали как среднее±стандартное отклонение (M±SD) [4, 5].

Благодарности

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.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Влияние антоциансодержащих растительных комплексов на развитие перевиваемых опухолей, эффективность цитостатической терапии и показатели периферической крови

3.1.1 Карцинома лёгких Льюис

3.1.1.1 Антоциансодержащий комплекс из *Sorbus aucuparia* L.

Антоциансодержащий комплекс (экстрагент 40% этанол). К 21-м сут эксперимента у мышей с перевитой карциномой легких Льюис под влиянием циклофосфана зарегистрированы достоверные изменения исследуемых параметров. Относительно показателей у мышей контрольной группы масса опухолевого узла уменьшилась в 1,2 раза ($p<0,05$). Установлено также угнетение метастазирования, выражающееся в сокращении количества метастазов (в 2,8 раза) и площади их диссеминации (в 7,8 раза) при уровне значимости $p<0,01$, при этом индекс ингибирования процесса метастазирования составил 64% (таблица 7).

В ходе исследования установлено, что добавление антоциансодержащего комплекса из *S. aucuparia*, полученного с использованием 40% этанола (АСК S-40), к режиму химиотерапии циклофосфаном не приводит к достоверному изменению массы первичной опухоли у мышей по сравнению с группой монохимиотерапии (для обеих исследованных доз). Однако выявлено статистически значимое усиление противоместатического эффекта ЦФ. Комбинированное применение цитостатика и растительного комплекса в дозах 1 и 5 мл/кг способствовало снижению количества метастазов в 1,8 и 2,0 раза ($p<0,01$), и площади их диссеминации – в 2,9 и 2,7 раза ($p<0,05$), соответсвенно, по сравнению с изолированным использованием циклофосфана. Индекс торможения метастазирования в этих группах составил 80 и 83% соответственно (см. таблицу 7).

Таблица 7 – Влияние приготовленного на 40% этаноле антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. (АСК S-40) на развитие карциномы лёгких Льюис и эффективность лечения циклофосфаном мышей-самок линии C57Bl/6

Группа наблюдения, доза препарата × число введений (количество животных)	Масса опухоли (M±SD), г	Торможение роста опухоли, %	Частота метастазирования, %	Количество метастазов на 1 мышь (M±SD)	Площадь метастазов на 1 мышь (M±SD), мм^2	ИИМ, %
1. Контроль (10)	6,80± 0,38	–	100	39,80± 3,52	67,26± 12,40	–
2. ЦФ, 125 мг/кг × 1 (10)	5,75± 0,23 1–2P< 0,05	15	100	14,40± 1,63 1–2P< 0,01	8,67± 5,68 1–2P< 0,01	64
3. АСК S-40, 1 мл/кг ×12 (10)	7,01± 0,24	-3	100	36,11± 2,78	59,20± 8,47	9
4. ЦФ, 125 мг/кг × 1 + АСК S-40, 1 мл/кг × 12 (10)	5,68± 0,35	16	100	8,08± 3,06 2–4P< 0,01	3,00± 2,04 2–4P< 0,05	80
5. АСК S-40, 5 мл/кг × 12 (10)	6,02± 0,22	11	100	37,70± 3,21	42,05± 7,86	5
6. ЦФ, 125 мг/кг × 1 + АСК S-40, 5 мл/кг × 12 (10)	6,42± 0,40	6	90	7,30± 2,48 2–6P< 0,01	3,23± 1,99 2–6P< 0,05	83
Примечание: в таблицах перед уровнем значимости P указаны номера сравниваемых групп						

В случае изолированного назначения мышам с карциномой лёгких Льюис АСК из *S. aucuparia* в дозах 1 и 5 мл/кг достоверного влияния на развитие опухолевого процесса не выявлено (см. таблицу 7).

Анализ показателей периферической крови показал, что при развитии опухоли (13 сут после трансплантации) количество эритроцитов уменьшилось в 1,5 раза ($P<0,01$). Также отмечен сниженный уровень гемоглобина и гематокрита в 1,5 и 1,3 раза ($P<0,01$) соответственно по сравнению с этими показателями у фоновых (здоровых) мышей (см. таблицу 7).

На 3 сут после однократного введения циклофосфана в дозе 125 мг/кг общее количество лейкоцитов в периферической крови мышей уменьшилось в 3,5 раза относительно контрольного уровня за счёт снижения числа нейтрофильных гранулоцитов, лимфоцитов и моноцитов в 3,2; 3,6 и 3,4 раза соответственно (P<0,01) (таблица 8).

Таблица 8 – Показатели периферической крови у мышей с карциномой лёгких Льюис, получавших приготовленный на 40% этаноле антоциансодержащий комплекс из *Sorbus aucuparia* L. (АСК S-40) на фоне химиотерапии, на 3 сут после введения циклофосфана (13 сут после трансплантации опухоли) (M±SD)

Группа наблюдения, доза препарата × число введений (количество животных)	ОКЛ, Г/л	Гранулоциты, Г/л	Лимфоциты, Г/л	Моноциты, Г/л	Тромбоциты, 10^9/л	Эритроциты, 10^{12}/л	Гематокрит, %	Гемоглобин, г/л
А. Интактный контроль (6)	12,74± 1,04	1,02± 0,12	11,05± 0,89	0,67± 0,06	1043,33± 53,03	12,11± 0,06	38,17± 0,22	18,55± 0,11
1. Контроль (6)	12,43± 0,87	1,03± 0,14	9,68± 0,65	1,72± 0,12	1002,33± 60,02	8,17± 0,32 А-1P< 0,01	28,52± 1,14 А-1P< 0,01	12,42± 0,50 А-1P< 0,01
2. ЦФ, 125 мг/кг × 1 (6)	3,54± 0,28 1-2P< 0,01	0,32± 0,08 1-2P< 0,01	2,72± 0,59 1-2P< 0,01	0,50± 0,11 1-2P< 0,01	864,00± 55,61	7,54± 0,52	26,40± 1,33	11,88± 0,66
3. АСК S-40, 1 мл/кг × 7 (6)	14,36± 1,88	1,42± 0,39	10,67± 1,23	2,27± 0,34	700,50± 86,13 1-3P< 0,05	7,98± 0,63	28,47± 1,72	12,12± 0,87
4. ЦФ, 125 мг/кг × 1 + АСК S-40, 1 мл/кг × 7 (6)	3,40± 0,28	0,25± 0,07	2,73± 0,57	0,42± 0,09	1151,67± 102,64 2-4P< 0,05	8,18± 0,43	28,08± 1,35	12,95± 0,62
5. АСК S-40, 5 мл/кг × 7 (6)	12,51± 0,64	0,88± 0,15	9,83± 0,43	1,80± 0,13	913,33± 56,85	8,45± 0,27	29,48± 0,86	13,15± 0,44

Группа наблюдения, доза препарата × число введений (количество животных)	ОКЛ, Г/л	Гранулоциты, Г/л	Лимфоциты, Г/л	Моноциты, Г/л	Тромбоциты, 10^9/л	Эритроциты, 10^{12}/л	Гематокрит, %	Гемоглобин, г/л
6. ЦФ, 125 мг/кг × 1+АСК S-40, 5 мл/кг × 7 (6)	3,36± 0,49	0,37± 0,09	2,87± 0,71	0,12± 0,03 2-6P< 0,05	731,17± 112,71	7,20± 0,58	24,15± 1,74	12,25± 0,94

В этот срок наблюдения у животных, получавших совместно с циклофосфаном АСК S-40 в дозе 1 мл/кг, в 1,3 ($P<0,05$) раза выше оказалось количество тромбоцитов, остальные показатели периферической крови достоверно не отличались от таковых у мышей группы монохимиотерапии. У животных, леченных цитостатиком с АСК S-40 в дозе 5 мл/кг, снизилось количество моноцитов (в 4,2 раза, $P<0,05$) (см. таблицу 8).

У мышей, получавших изолированно растительный комплекс в обеих изучаемых дозах, показатели белой крови не отличались от таковых в контроле. Достоверно меньше (в 1,4 раза) оказалось лишь количество тромбоцитов у животных, леченных АСК S-40 в дозе 1 мл/кг (см. таблицу 8).

Антоциансодержащий комплекс (экстрагент 95% этанол). В эксперименте на мышах-самках линии C57BL/6 с карциномой лёгких Льюис обнаружено достоверное ингибирующее влияние циклофосфана на рост первичного опухолевого узла и метастазов. Так, на 21 сут развития LLC под влиянием цитостатика масса опухоли уменьшилась в 1,6 раза, количество метастазов снизилось в 3,3 раза, их площадь оказалась многократно меньше контрольных значений, индекс ингибирования метастазирования составил 72% (таблица 9).

При добавлении в схему химиотерапии АСК из *S. aucuparia* в обеих дозах масса первичной опухоли у мышей достоверно не менялась, прослеживалась лишь тенденция к её уменьшению по сравнению с таковой у получавших циклофосфан животных. В то же время, совместное использование

циклофосфана с антоциансодержащим комплексом привело к повышению противометастатического действия цитостатика. Так, количество метастазов и их площадь у мышей, получавших совместно с циклофосфаном АСК S-95 в дозах 1 и 5 мл/кг, оказались многократно меньше, частота метастазирования составила 20% и 38% против 90% у животных группы монохимиотерапии. В группах комбинированной терапии ИИМ оказался наивысшим, достигая 99%. Следует отметить гибель 20% животных в группе, леченных на фоне химиотерапии АСК S-95 в дозе 5 мл/кг (см. таблицу 9).

Таблица 9 – Влияние приготовленного на 95% этаноле антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. (АСК S-95) на развитие карциномы лёгких Льюис и эффективность лечения циклофосфаном мышей-самок линии С57Bl/6

Группа наблюдения, доза препарата × число введений (количество животных)	Масса опухоли (M±SD), г	Торможение роста опухоли, %	Частота метастазирования, %	Количество метастазов на 1 мышь (M±SD)	Площадь метастазов на 1 мышь (M±SD), мм^2	ИИМ, %
1. Контроль (10)	6,20± 0,22	–	100	20,89± 2,47	29,14± 6,13	–
2. ЦФ, 125 мг/кг × 1(10)	3,91± 0,40 1-2P< 0,01	37	90	6,40± 2,31 1-2P< 0,01	1,39± 0,80 1-2P< 0,01	72
3. АСК S-95, 1 мл/кг × 12 (10)	5,46± 0,24 1-3P< 0,05	12	100	11,70± 1,22 1-3P< 0,01	8,69± 1,08 1-3P< 0,01	44
4. ЦФ, 125 мг/кг × 1 +АСК S-95, 1 мл/кг ×12 (10)	3,42± 0,46	45	20 2-4P< 0,01	0,60± 0,43 2-4P< 0,01	0,04± 0,03 2-4P< 0,01	99
5. АСК S-95, 5 мл/кг × 12 (10)	4,95± 0,20 1-5P< 0,01	20	100	18,10± 3,95	24,85± 11,62	13

Группа наблюдения, доза препарата × число введений (количество животных)	Масса опухоли (M±SD), г	Торможение роста опухоли, %	Частота метастазирования, %	Количество метастазов на 1 мышь (M±SD)	Площадь метастазов на 1 мышь (M±SD), мм^2	ИИМ, %
6. ЦФ, 125 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 12 (8)	3,25± 0,40	48	38 2-6P< 0,01	0,38± 0,18 2-6P< 0,01	0,12± 0,01 2-6P< 0,01	99

В случае изолированного назначения мышам с карциномой лёгких Льюис растительного комплекса в дозах 1 и 5 мл/кг выявлено достоверное торможение роста первичной опухоли (12% и 20%). Кроме того, у мышей, получавших растительный комплекс в дозе 1 мл/кг, количество метастазов в лёгких и их площадь оказались в 1,8 и 3,4 раза (P<0,01) меньше таковых у нелеченых животных контроля; индекс ингибирования метастазирования составил 44%. При использовании АСК S-95 из *S. aucuparia* в дозе 5 мл/кг для лечения мышей с LLC достоверного ингибирующего влияния на процесс метастазирования не обнаружено (см. таблицу 9).

Анализ показателей периферической крови показал, что, на 13 сут после трансплантации опухоли, развитие LLC привело к увеличению числа нейтрофильных гранулоцитов в 2,0 раза (P<0,01) и одновременному снижению количества тромбоцитов в 1,9 раза (P<0,01), уровней гемоглобина и гематокрита – в 1,5 раза (P<0,01) по сравнению с этими показателями у животных интактной группы (таблица 10).

На 3 сут после однократного введения мышам циклофосфана в дозе 125 мг/кг отмечено его токсическое действие на клетки белой крови: общее количество лейкоцитов уменьшилось в 3,8 раза (P<0,01) относительно контрольного уровня за счёт снижения числа нейтрофильных гранулоцитов, лимфоцитов и моноцитов (в 4,6; 3,6 и 5,0 раза соответственно) (см. таблицу 10).

Таблица 10 – Показатели периферической крови у мышей с карциномой лёгких Льюис, получавших приготовленный на 95% этаноле антоциансодержащий комплекс из *Sorbus aucuparia* L. (АСК S-95) на фоне химиотерапии, на 3 сут после введения циклофосфана (13 сут после трансплантации опухоли) (M±SD)

Группа наблюдения, доза препарата × число введений (количество животных)	ОКЛ, Г/л	Гранулоциты, Г/л	Лимфоциты, Г/л	Моноциты, Г/л	Тромбоциты, 10^9/л	Эритроциты, 10^{12}/л	Гематокрит, %	Гемоглобин, г/л
А. Интактный контроль (6)	12,75± 1,04	1,02± 0,12	11,05± 0,89	0,67± 0,06	1043,33± 53,03	12,11± 0,06	38,17± 0,22	18,55± 0,11
1. Контроль (6)	11,41± 0,89	1,99± 0,23 А-1Р< 0,01	8,69± 0,73	0,75± 0,04	539,63± 60,90 А-1Р< 0,01	7,77± 0,47	26,06± 1,51 А-1Р< 0,01	12,20± 0,72 А-1Р< 0,01
2. ЦФ, 125 мг/кг × 1 (6)	3,01± 0,69 1-2Р< 0,01	0,43± 0,10 1-2Р< 0,01	2,44± 0,56 1-2Р< 0,01	0,15± 0,05 1-2Р< 0,01	623,50± 86,22	7,32± 0,75	23,30± 2,12	11,73± 1,11
3. АСК S-95, 1 мл/кг × 7 (6)	12,03± 1,54	1,98± 0,15	9,30± 1,42	0,77± 0,03	729,33± 74,85	9,08± 0,22	30,05± 0,79	14,33± 0,38 1-3Р< 0,05
4. ЦФ, 125 мг/кг × 1 + АСК S-95, 1 мл/кг × 7 (6)	2,32± 0,74	0,32± 0,11	1,87± 0,59	0,12± 0,05	576,50± 98,17	7,32± 0,54	24,17± 1,72	11,98± 0,87
5. АСК S-95, 5 мл/кг × 7 (6)	16,03± 1,89	2,47± 0,30	12,25± 1,63	1,30± 0,15 1-5Р< 0,01	793,17± 27,65 1-5Р< 0,01	9,49± 0,33 1-5Р< 0,01	31,93± 1,14 1-5Р< 0,01	15,25± 0,56 1-5Р< 0,01
6. ЦФ, 125 мг/кг + АСК S-95, 5 мл/кг × 7 (6)	1,57± 0,65	0,37± 0,19	1,12± 0,50	0,08± 0,05	787,00± 114,73 2-6Р< 0,05	8,63± 0,73 2-6Р< 0,05	27,07± 2,30	13,58± 1,11 2-6Р< 0,05

У животных, получавших совместно с циклофосфаном АСК S-95 в дозе 5 мл/кг, в этот срок наблюдения выше оказалось количество тромбоцитов и эритроцитов, а также уровень гемоглобина. Остальные показатели перифериче-

ской крови достоверно не разнились с таковыми у мышей группы монохимиотерапии (см. таблицу 10).

Следует отметить, что у мышей, которым вводили изолированно растительный комплекс в дозе 1 мл/кг, выше в 1,2 раза ($P<0,05$) оказался уровень гемоглобина в периферической крови, а в случае использования АСК S-95 в дозе 5 мл/кг достоверно повышенными были такие показатели, как количество моноцитов, тромбоцитов, эритроцитов, гематокрит и уровень гемоглобина (в 1,7; 1,5; 1,2; 1,2 и 1,3 раза соответственно) по сравнению с этими данными у животных контрольной группы (см. таблицу 10).

Таким образом, результаты скринингового исследования доказывают, что антоциансодержащий комплекс из плодов *S. aucuparia*, полученный на 95% этаноле, наиболее эффективно подавляет развитие карциномы лёгких Льюис по сравнению с растительным комплексом, полученным на 40% этаноле, а также положительно влияет на некоторые показатели периферической крови (количество тромбоцитов, эритроцитов, а также уровень гемоглобина). В связи с этим для дальнейших экспериментов были выбраны приготовленные на 95% этаноле антоциансодержащие комплексы.

3.1.1.2 Антоциансодержащий комплекс из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott.

У мышей на 21 сут развития карциномы лёгких Льюис под влиянием циклофосфана масса первичной опухоли уменьшилась в 1,2 раза ($P<0,01$) по сравнению с контрольным значением. Достоверно ниже оказалось также количество и площадь метастазов в лёгких этих животных (в 1,9 и 11,3 раза), однако частота метастазирования не отличалась от контрольного уровня (таблица 11).

При введении в схему химиотерапии АСК А-95 противоопухолевая активность цитостатика не менялась, выявлена лишь тенденция к повышению

противоопухолевого действия циклофосфана у мышей под влиянием растительного комплекса в дозе 5 мл/кг (см. таблицу 11).

Таблица 11 – Влияние приготовленного на 95% этаноле антоцианосодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (АСК А-95) на развитие карциномы лёгких Льюис и эффективность лечения циклофосфаном мышей-самок линии C57Bl/6

Группа наблюдения, доза препарата × число введений (количество животных)	Масса опухоли (M±SD), г	Торможение роста опухоли, %	Частота метастазирования, %	Количество метастазов на 1 мышь (M±SD)	Площадь метастазов на 1 мышь (M±SD), мм^2	ИИМ, %
1. Контроль (10)	6,67± 0,26	–	100	29,30± 3,07	78,62± 15,12	–
2. ЦФ, 125 мг/кг × 1 (10)	5,39± 0,25 1-2P< 0,01	19	100	15,10± 2,95 1-2P< 0,01	6,98± 2,42 1-2P< 0,01	48
3. АСК А-95, 1 мл/кг × 12 (10)	6,21± 0,58	7	100	28,90± 4,35	29,54± 6,43 1-3P< 0,01	1
4. ЦФ, 125 мг/кг × 1 + АСК А-95, 1 мл/кг × 12 (10)	5,59± 0,26	16	80 2-4P< 0,01	7,50± 4,16 2-4P< 0,05	2,05± 0,94 2-4P< 0,05	80
5. АСК А-95, 5 мл/кг × 12 (10)	6,93± 0,33	–4	100	38,20± 8,19	46,94± 12,60 1-5P< 0,05	–30
6. ЦФ, 125 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 12 (10)	4,48± 0,46	33	50 2-6P< 0,01	1,20± 0,57 2-6P< 0,01	0,46± 0,34 2-6P< 0,01	98

В то же время у животных, получавших комбинированное лечение, наблюдалось повышение противометастатического действия цитостатика. Так, при добавлении в схему химиотерапии АСК А-95 в дозе 1 мл/кг достоверно снизилось количество и площадь метастазов (в 2,0 и 3,4 раза, P<0,05),

ИИМ составил 80% против 48% у мышей, которым вводили только циклофосфан (см. таблицу 11). В случае использования растительного комплекса в дозе 5 мл/кг все показатели процесса диссеминации снизились многократно по сравнению с таковыми у животных, получавших монохимиотерапию, ИИМ в данной группе достиг максимальных значений и составил 98% (см. таблицу 11).

При изолированном назначении мышам с карциномой лёгких Льюис АСК А-95 в обеих дозах достоверного влияния на первичный опухолевый узел не выявлено. Однако у мышей, получавших антоциансодержащий комплекс в дозах 1 и 5 мл/кг, площадь метастазов в лёгких оказалась достоверно (в 2,7 и 1,7 раза) меньше контрольного значения (см. таблицу 11).

При анализе показателей периферической крови обнаружено, что развитие карциномы лёгких Льюис (13 сут после трансплантации опухоли) привело к увеличению ОКЛ мышей в 1,4 раза ($P<0,05$) относительно этого показателя у фоновых животных за счёт повышения числа нейтрофильных гранулоцитов в 2,9 раза ($P<0,01$). В то же время у животных с опухолью достоверно уменьшились количество тромбоцитов, эритроцитов, уровень гематокрита и гемоглобина (в 1,7; 1,9; 1,6 и 1,8 раза соответственно) (таблица 12).

На 3 сут после однократного введения циклофосфана в дозе 125 мг/кг (14 сут после перевивки LLC) общее количество лейкоцитов в периферической крови мышей уменьшилось в 3,4 раза относительно контрольного уровня за счёт снижения числа нейтрофильных гранулоцитов, лимфоцитов и моноцитов в 3,7; 3,2 и 3,3 раза соответственно ($P<0,01$). Отмечено также уменьшение числа эритроцитов, уровня гематокрита и гемоглобина в 1,8; 1,8 и 1,7 раза соответственно ($P<0,05$) (см. таблицу 12).

В этот срок наблюдения у животных, получавших совместно с циклофосфаном антоциансодержащий комплекс из *A. melanocarpa* в дозе 1 мл/кг, общее количество лейкоцитов оказалось в 1,6 раза меньше ($P<0,05$) за счёт снижения числа нейтрофильных гранулоцитов в 1,4 раза ($P<0,01$). Аналогичная картина наблюдалась в периферической крови мышей, получавших

на фоне цитостатика растительный комплекс в дозе 5 мл/кг: количество ОКЛ уменьшилось за счёт снижения числа гранулоцитов и моноцитов (в 2,1 и 3,3 раза) относительно этих значений у животных группы монохимиотерапии (см. таблицу 12).

Таблица 12 – Показатели периферической крови у мышей с карциномой лёгких Льюис, получавших приготовленный на 95% этаноле антоциансодержащий комплекс из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (АСК А-95) на фоне химиотерапии, на 3 сут после введения циклофосфана (13 сут после трансплантации опухоли) (M±SD)

Группа наблюдения, доза препарата (количество животных)	ОКЛ, Г/л	Гранулоциты, Г/л	Лимфоциты, Г/л	Моноциты, Г/л	Тромбоциты, 10^9/л	Эритроциты, 10^{12}/л	Гематокрит, %	Гемоглобин, г/л
А. Фон (6)	9,88±0,67	0,78±0,05	8,60±0,58	0,50±0,06	1024,40±52,52	10,46±0,28	33,16±0,79	15,74±0,45
1. Контроль (6)	13,52±2,34 А-1 P<0,05	2,28±0,51 А-1 P<0,01	10,58±1,71	0,66±0,14	596,80±79,98 А-1 P<0,01	5,46±0,36 А-1P<0,01	20,38±0,92 А-1P<0,01	8,68±0,48 А-1P<0,01
2. ЦФ, 125 мг/кг × 1 (6)	3,96±0,21 1-2P<0,01	0,62±0,02 1-2P<0,01	3,28±0,13 1-2P<0,01	0,20±0,00 1-2P<0,01	478,60±46,70	2,97±0,67 1-2P<0,05	11,44±2,59 1-2P<0,05	5,26±1,19 1-2P<0,05
3. АСК А-95, 1 мл/кг × 7 (6)	13,38±1,40	3,60±0,64	9,18±1,35	0,60±0,10	649,80±51,87	5,67±1,07	20,60±3,05	8,86±1,58
4. ЦФ, 125 мг/кг × 1 + АСК А-95, 1 мл/кг × 7 (6)	2,48±0,12 2-4P<0,01	0,44±0,02 2-4P<0,01	1,86±0,11	0,18±0,02	564,80±98,36	3,64±0,65	13,26±2,26	6,04±1,03
5. АСК А-95, 5 мл/кг × 7 (6)	14,46±3,07	2,42±0,60	11,40±2,76	0,64±0,14	660,40±72,96	5,26±0,72	19,96±2,27	8,48±1,07
6. ЦФ, 125 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 7 (6)	2,48±0,88 2-6P<0,01	0,30±0,89 2-6P<0,01	2,12±0,89	0,06±0,02 2-6P<0,01	607,60±102,95	2,99±0,31	11,78±1,13	5,30±0,47

У мышей, получавших изолированно АСК А-95 в обеих изучаемых дозах, показатели периферической крови не отличались от контрольных значений (см. таблицу 12).

Анализ результатов изучения влияния антоциансодержащих комплексов, полученных из *S. aucuparia* и *A. melanoarpa,* на развитие карциномы лёгких Льюис выявил, что при их включении в схему химиотерапии в обеих дозах наблюдается преимущественно повышение противометастатической активности цитостатика. Кроме того, при изолированном назначении АСК S-95 в дозе 5 мл/кг отмечен как противоопухолевый, так и антиметастатический эффект, а при снижении дозы данного растительного комплекса до 1 мл/кг наблюдается ингибиция развития первичного опухолевого узла. Добавление в схему химиотерапии антоциансодержащих комплексов препятствует снижению таких показателей периферической крови животных, как количество тромбоцитов, эритроцитов.

3.1.2 Рак лёгкого-67

3.1.2.1 Антоциансодержащий комплекс из *Sorbus aucuparia* L.

В эксперименте на мышах линии С57Bl/6 с перевитым РЛ-67 выявлено, что применение циклофосфана при отсутствии влияния на рост первичного опухолевого узла привело к достоверному уменьшению количества и площади метастазов в лёгких в 2,0 и 17,3 раза соответственно, ИИМ составил 51 % (таблица 13).

При введении в схему химиотерапии антоциансодержащего комплекса из *S. aucuparia* в дозе 1 мл/кг и 5 мл/кг противоопухолевая активность цитостатика не менялась. При назначении АСК S-95 в дозе 1 мл/кг совместно с циклофосфаном наблюдалось достоверное многократное уменьшение количества метастазов в лёгких и их площади, частота метастазирования снизи-

лась до 10% против 100% (P<0,01) в группе леченных только цитостатиком мышей, ИИМ достиг максимальных значений и составил 99%. Аналогичный эффект был получен в группе животных, получавших АСК S-95 в дозе 5 мл/кг совместно с антибластомным препаратом: наблюдалось снижение количества метастазов в лёгких в 5,1 раза, а их площади – в 9,3 раза (P<0,05), частота метастазирования составила 38% против 100% (P<0,01) в группе леченных только цитостатиком мышей (см. таблицу 13).

Таблица 13 – Влияние приготовленного на 95% этаноле антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. (АСК S-95) на развитие рака лёкого-67 и эффективность лечения циклофосфаном мышей-самок линии C57Bl/6

Группа наблюдения, доза препарата × число введений (количество животных)	Масса опухоли (M±SD), г	Торможение роста опухоли, %	Частота метастазирования, %	Количество метастазов на 1 мышь (M±SD)	Площадь метастазов на 1 мышь (M±SD), мм^2	ИИМ, %
1. Контроль (10)	2,76±0,45	–	100	9,10±1,40	9,68±3,85	–
2. ЦФ, 125 мг/кг × 1, (10)	2,09±0,28	24	100	4,50±0,72 1-2P<0,01	0,56±0,18 1-2P<0,01	51
3. АСК S-95, 1 мл/кг × 12 (10)	3,20±0,45	–16	50 1-3P<0,01	4,10±1,73 1-3 P<0,05	3,57±2,13 1-3 P<0,01	77
4.ЦФ, 125 мг/кг × 1 + АСК S-95, 1 мл/кг × 12 (10)	2,85±0,40	–3	10 2-4P<0,01	0,20±0,20 2-4P<0,01	0,02±0,01 2-4P<0,01	99
5. АСК S-95, 5 мл/кг × 12 (10)	2,39±0,22	13	80 1-5P<0,01	5,10±1,57 1-5 P<0,05	0,63±0,39 1-5 P<0,01	55
6. ЦФ, 125 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 12 (8)	2,04±0,40	26	38 2-6P<0,01	0,88±0,52 2-6P<0,05	0,06±0,04 2-6P<0,05	96

В случае изолированного назначения мышам с раком лёкого-67 растительного комплекса в дозах 1 и 5 мл/кг достоверного влияния на развитие первичного опухолевого узла не выявлено (см. таблицу 13).

У мышей, получавших растительный комплекс в дозе 1 мл/кг, количество метастазов в лёгких и их площадь оказались в 2,2 ($P<0,05$) и 2,7 ($P<0,01$) раза меньше таковых у нелеченых животных контроля; индекс ингибирования метастазирования составил 77 %, при этом частота метастазирования снизилась в 2,0 раза. При использовании АСК S-95 в дозе 5 мл/кг для лечения мышей с РЛ-67 также обнаружено достоверное ингибирующее влияние на процесс метастазирования: количество и площадь метастазов в лёгких уменьшились в 1,8 и 15,4 раза относительно этих показателей у контрольных животных (см. таблицу 13).

3.1.2.2 Антоциансодержащий комплекс из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott.

В эксперименте на мышах-самках линии C57Bl/6 с раком лёгкого-67 не обнаружено ингибирующего влияния циклофосфана на рост первичного опухолевого узла, однако отмечено достоверное уменьшение количества и площади метастазов в лёгких в 2,0 и 17,3 раза соответственно (таблица 14).

При совместном назначении с циклофосфаном АСК А-95 из *A. melanocarpa* во всех изучаемых дозах противоопухолевая активность цитостатика не менялась. Повышение противометастатического эффекта наблюдалось при добавлении в схему химиотерапии АСК А-95 из *A. melanocarpa* в дозе 5 мл/кг: количество метастазов в лёгких и их площадь снизились в 2,0 и 1,9 раза ($P<0,05$) по сравнению с таковыми у получавших только циклофосфан мышей. Кроме того, достоверно уменьшилось количество животных с метастазами до 60 %, против 100 % в группе монохимиотерапии, при этом ИИМ составил 85% против 51%. Использование цитостатика с АСК А-95 в меньшей дозе (1 мл/кг) также приводило к снижению частоты метастазирования до 70% (см. таблицу 14).

Таблица 14 – Влияние приготовленного на 95% этаноле антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (АСК А-95) на развитие рака лёгкого-67 и эффективность лечения циклофосфаном мышей-самок линии С57Bl/6

Группа наблюдения, доза препарата × число введений (количество животных)	Масса опухоли (M±SD), г	Торможение роста опухоли, %	Частота метастазирования, %	Количество метастазов на 1 мышь (M±SD)	Площадь метастазов на 1 мышь (M±SD), мм^2	ИИМ, %
1. Контроль (10)	2,76±0,45	–	100	9,10±1,40	9,68±3,85	–
2. ЦФ, 125 мг/кг × 1 (10)	2,09±0,28	24	100	4,50±0,72 1-2P<0,01	0,56±0,18 1-2P<0,01	51
3. АСК, 1 мл/кг А-95 × 12 (10)	3,32±0,38	–20	90	6,60±2,52	3,69±1,52 1-3 P<0,05	35
4. ЦФ, 125 мг/кг × 1 + АСК А-95, 1 мл/кг × 12 (10)	2,01±0,44	27	70 2-4P<0,01	3,78±1,21	0,61±0,35	71
5. АСК А-95, 5 мл/кг × 12 (10)	4,25±0,42 1-5 P<0,05	–54	100	7,50±1,71	7,29±3,47	18
6. ЦФ, 125 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 12 (10)	3,00±0,37	–9	60 2-6P<0,01	2,20±0,81 2-6P<0,05	0,30±0,81 2-6P<0,05	85

При изолированном назначении мышам с РЛ-67 растительного комплекса в дозе 5 мл/кг наблюдалось увеличение массы первичного опухолевого узла в 1,5 раза (P<0,05). У животных, получавших антоциансодержащий комплекс в дозе 1 мл/кг, площадь метастазов в лёгких оказалась достоверно (в 2,6 раза) меньше контрольного значения (см. таблицу 14).

Таким образом, добавление в схему химиотерапии антоциансодержащих комплексов из *S. aucuparia* (1 и 5 мл/кг*)* и *A. melanocarpa* (5 мл/кг) приводит к повышению противометастатического действия циклофосфана у мышей с РЛ-67. Изолированное назначение АСК S-95 животным с опухолью оказывает ингибирующее действие на процесс метастазирования.

3.1.3 Меланома В-16

3.1.3.1 Антоциансодержащий комплекс из *Sorbus aucuparia* L.

В эксперименте на мышах-самках линии С57Bl/6 с меланомой В-16 обнаружено достоверное торможение роста опухоли под влиянием циклофосфана. Так, использование цитостатика привело к снижению массы первичного опухолевого узла в 1,6 раза (P<0,01) (таблица 15).

Таблица 15 – Влияние антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. (АСК S-95) на развитие меланомы В-16 и эффективность лечения циклофосфаном мышей-самок линии С57Bl/6

Группа наблюдения, доза препарата × число введений (количество животных)	Масса опухоли (M±SD), г	Торможение роста опухоли, %	Частота метастазирования, %	Количество метастазов на 1 мышь (M±SD)	Площадь метастазов на 1 мышь (M±SD), мм^2	ИИМ, %
1. Контроль (10)	4,35±0,33	–	40	2,05±0,83	0,19±0,09	–
2. ЦФ, 125 мг/кг × 1 (10)	2,67±0,29 1-2P<0,01	39	70	10,22±2,91	0,72±0,20	–772
3. АСК S-95, 1 мл/кг × 12 (10)	3,57±0,52	18	50	6,75±3,14	0,47±0,22	–312
4. ЦФ, 125 мг/кг × 1 + АСК S-95, 1 мл/кг × 12 (10)	2,81±0,25	35	30 2-4P< 0,05	1,70±1,07 2-4P< 0,05	0,09±0,06 2-4P< 0,05	38
5. АСК S-95, 5 мл/кг × 12 (10)	2,99±0,53 1-5P<0,05	31	50	6,70±3,80	0,47±0,27	–309
6. ЦФ, 125 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 12 (10)	2,09±0,40	52	50	1,20±0,51 2-6P<0,05	0,08±0,04 2-6P<0,05	27

При включении в схему лечения цитостатиком антоциансодержащего комплекса из *S. aucuparia* в дозе 1 мл/кг частота метастазирования оказалась достоверно меньше и составила 30% против 70% у мышей группы монохимиотерапии, при этом наблюдалось уменьшение количества и площади метастазов в лёгких в 6,0 и 8,0 раза (P<0,05) соответственно. Совместное исполь-

зование циклофосфана с АСК S-95 в дозе 5 мл/кг привело к достоверному уменьшению количества и площади метастазов (в 8,5 и 9,0 раза соответственно) по сравнению с этими показателями у получавших только цитостатик животных; выявлена также тенденция к уменьшению массы первичной опухоли (в 1,3 раза), ТРО составило 52% против 39% (см. таблицу 15).

При изолированном применении растительного комплекса в дозе 5 мл/кг для лечения мышей с В-16 выявлено достоверное ингибирующее влияние на рост первичной опухоли: её масса отличалась от контрольных значений в 1,5 раза (см. таблицу 15).

3.1.3.2 Антоциансодержащий комплекс из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott.

В эксперименте на мышах-самках линии С57Bl/6 обнаружено, что под влиянием циклофосфана масса первичной опухоли В-16 уменьшилась в 1,6 раза относительно таковой у нелеченых животных, при этом отмечена тенденция к повышению всех показателей процесса диссеминации: частота метастазирования повысилась с 40% в контроле до 70%, количество и площадь метастазов оказались больше контрольных значений в 5,0 и 3,8 раза (таблица 16).

Введение в схему химиотерапии АСК из *A. melanocarpa* достоверно не изменяло эффективность лечения цитостатиком, отмечена лишь тенденция к уменьшению показателей процесса диссеминации, более выраженная при использовании АСК А-95 в дозе 1 мл/кг (см. таблицу 16).

При изолированном назначении АСК А-95 в дозе 5 мл/кг для лечения мышей выявлено достоверное ингибирующее влияние на рост первичного опухолевого узла: его масса отличалась от контрольных значений в 1,4 раза; ТРО составило 26% (см. таблицу 16).

Таблица 16 – Влияние приготовленного на 95 % этаноле антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (АСК А-95) на развитие меланомы В-16 и эффективность лечения циклофосфаном мышей-самок линии С57Bl/6

Группа наблюдения, доза препарата × число введений (количество животных)	Масса опухоли (M±SD), г	Торможение роста опухоли, %	Частота метастазирования, %	Количество метастазов на 1 мышь (M±SD m)	Площадь метастазов на 1 мышь (M±SD), мм^2	ИИМ, %
1. Контроль (10)	4,35±0,33	–	40	2,05±0,83	0,19±0,09	–
2. ЦФ, 125 мг/кг × 1 (10)	2,67±0,29 1-2P<0,01	39	70	10,22±2,91	0,72±0,20	–774
3. АСК А-95, 1 мл/кг × 12 (10)	3,44±0,36	21	50	4,80±2,24	0,34±0,16	–193
4. ЦФ, 125 мг/кг × 1 + АСК А-95, 1 мл/кг × 12 (10)	2,81±0,40	35	40	2,90±1,51	0,20±0,11	–41
5. АСК А-95, 5 мл/кг × 12 (10)	3,22±0,37 1-5P<0,05	26	70	4,50±2,41	0,33±0,17	–284
6. ЦФ, 125 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 12 (10)	2,84±0,22	35	50	7,10±4,11	0,50±0,29	–333

Таким образом, при изучении влияния антоциансодержащих комплексов из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* на развитие меланомы В-16 у мышей отмечается повышение противометастатического действия циклофосфана в случае добавления в схему химиотерапии АСК S-95 (1 и 5 мл/кг). Изолированное использование АСК из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* в дозе 5 мл/кг приводит к ингибиции развития опухоли.

Представленные данные фармакологических исследований влияния антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* на развитие перевиваемых опухолей животных и на эффективность цитостатического лечения доказывают возможность их использования в качестве новых источников лекарственного сырья с целью создания препаратов для дополнительной терапии злокачественных новообразований. Результаты

скринингового исследования растительных комплексов на трех экспериментальных моделях злокачественного новообразования (LLC, РЛ-67, В-16) выявили, что наиболее выраженные противоопухолевые и антиметастатические эффекты получены на животных с карциномой лёгких Льюис, характеризующейся высокой интенсивностью диссеминации опухоли с метастазами, доступными для качественного и количественного анализа простыми способами. Для дальнейших экспериментов была выбрана модель карциномы лёгких Льюис, поскольку она обладает ключевым для нашего исследования свойством: её чувствительность к цитостатикам аналогична человеческим опухолям. Это делает данную модель релевантной, а её введение в экспериментальную онкологию [192] фактически позволило начать целенаправленный поиск антиметастатических средств.

3.2 Реакции системы крови на введение доксорубицина животным без опухоли при использовании антоциансодержащих растительных комплексов

3.2.1 Влияние антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. на развитие доксорубицин-индуцированной анемии у мышей без опухоли

Периферическая кровь

В периферической крови мышей на фоне введения доксорубицина в дозе 6 мг/кг наблюдалось развитие лейкопении и ретикулоцитопении (3–7 сут), с последующим восстановлением содержания лейкоцитов и ретикулоцитов к 10 сут исследования. Лейкопения сопровождалась снижением количества лимфоцитов в 1,2; 1,3 и 1,2 раза ($P<0,05$) соответственно (таблица 17).

Таблица 17 – Динамика показателей периферической крови у мышей-самок линии C57Bl/6 под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. *(*АСК S-95*)* на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Общее количество лейкоцитов, хГ/л	Гранулоциты, хГ/л	Лимфоциты, хГ/л	Моноциты, хГ/л	Ретикулоциты, ‰	Эритроциты, $x10^{12}$/л	Гемоглобин, г/л	Гематокрит, %
А. Интактный контроль (6)	13,98±0,70	1,42±0,18	11,84±0,60	0,72±0,04	60,4±2,89	10,25±0,15	16,66±0,33	45,7±0,68
3 сут после введения доксорубицина								
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	11,86±1,19 А-1 P<0,05	1,12±0,12	10,16±1,05 А-1 P<0,05	0,58±0,04	21,4±1,44 А-1 P<0,01	8,64±0,38 А-1 P<0,01	15,1±0,40 А-1 P<0,05	37,64±0,78 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 2 (6)	11,34±1,58	1,28±0,20	9,48±1,31	0,58±0,07	26,8±1,07 1-2 P<0,01	9,41±0,20 1-2 P<0,05	16,08±0,33 1-2 P<0,05	39,54±0,45 1-2 P<0,05
5 сут после введения доксорубицина								
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	11,56±1,07 А-1 P<0,05	1,68±0,20	9,38±0,47 А-1 P<0,05	0,50±0,05	18,4±2,46 А-1 P<0,01	8,87±0,37 А-1 P<0,01	14,98±0,60 А-1 P<0,05	36,44±1,38 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 4 (6)	11,64±0,95	1,42±0,18	9,66±0,19	0,56±0,09	35,4±4,68 1-2 P<0,05	9,75±0,22 1-2 P<0,05	16,38±0,32 1-2 P<0,05	39,60±0,96 1-2 P<0,05
7 сут после введения доксорубицина								
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	12,02±0,31 А-1 P<0,05	1,84±0,20	9,68±0,14 А-1 P<0,05	0,50±0,14	42,8±1,16 А-1 P<0,01	9,38±0,15 А-1 P<0,01	15,66±0,29 А-1 P<0,05	38,62±0,72 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 6 (6)	12,10±0,45	2,02±0,29	9,68±0,37	0,40±0,10	42,2±1,36	9,59±0,25	16,04±0,42	39,48±0,98

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Общее количество лейкоцитов, хГ/л	Гранулоциты, хГ/л	Лимфоциты, хГ/л	Моноциты, хГ/л	Ретикулоциты, ‰	Эритроциты, $x10^{12}$/л	Гемоглобин, г/л	Гематокрит, %
10 сут после введения доксорубицина								
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	13,18±1,00	1,12±0,09	11,40±0,90	0,66±0,05	59,6±1,36	10,03±0,20	16,58±0,43	41,08±0,82 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 9 (6)	14,08±0,31	1,62±0,18	11,72±0,21	0,74±0,10	57,8±0,58	9,85±0,22	16,26±0,50	40,14±1,07
12 сут после введения доксорубицина								
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	12,89±0,79	1,48±0,10	10,68±0,72	0,73±0,07	58,0±1,22	9,53±0,37 А-1 P<0,05	15,66±0,65	39,00±1,46 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг х 11 (6)	12,99±1,25	1,52±0,11	10,77±0,97	0,70±0,05	61,8±0,73 1-2 P<0,05	10,66±0,34 1-2 P<0,05	17,70±0,60 1-2 P<0,01	43,82±1,51 1-2 P<0,05
15 сут после введения доксорубицина								
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	14,11±1,40	2,00±0,26	11,23±0,49	0,88±0,07	57,8±1,39	10,00±0,24	16,64±0,43	40,90±1,08 А-1 P<0,05
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 14 (6)	13,38±0,44	1,60±0,10	10,90±0,63	0,88±0,08	58,6±0,93	10,03±0,12	16,66±0,19	41,32±0,44

Максимальное падение числа ретикулоцитов отмечено на 5 сут эксперимента: их количество в периферической крови мышей, получавших доксорубицин, снизилось в 3,3 раза ($P<0,01$) относительно этого показателя у интактных животных. На 3, 5 и 7 сут эксперимента количество эритроцитов, а также содержание гемоглобина в периферической крови мышей группы монохимиотерапии оставались достоверно меньше таковых у животных интактного контроля. Уменьшение количества эритроцитов зафиксировано и на 12 сут после введения цитостатика. Уровень гематокрита на протяжении всего эксперимента был достоверно ниже фоновых значений (см. таблицу 17).

Курсовое применение АСК из *S. aucuparia* оказало стимулирующий эффект только на эритропоэз. Так, на 3, 5 и 12 сут эксперимента количество ретикулоцитов у мышей, получавших растительный комплекс после введения доксорубицина, оказалось выше в 1,3; 1,9 и 1,1 раза соответственно относительно этого показателя у мышей, получавших только цитостатик. В указанные сроки исследования у животных комбинированной группы оказалось достоверно повышенными общее количество эритроцитов, содержание гемоглобина и уровень гематокрита в периферической крови относительно этих показателей у мышей, получавших только доксорубицин (см. таблицу 17).

Костный мозг

После однократной внутрибрюшинной инъекции доксорубицина в дозе 6 мг/кг на 3 и 5 сут отмечались отчетливые признаки подавления костномозгового кроветворения, что выражалось в уменьшении общего количества кариоцитов в 1,5 и 1,3 раза соответственно, по сравнению с показателем у животных интактного контроля, с дальнейшей нормализацией к 7 сут (таблица 18).

Анализ миелограмм показал, что развитие гипоплазии костномозгового кроветворения было обусловлено глубоким подавлением всех ростков гемопоэза. Отмечено достоверное снижение количества незрелых нейтрофильных гранулоцитов на 5, 7, 10, 12, 15 сут исследования. На 5 сут после введения

Таблица 18 – Динамика показателей костномозгового кроветворения (× 10^6 клеток/бедро) у мышей-самок линии C57Bl/6 под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. *(*АСК S-95*)* на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Общее количество кариоцитов	Нейтрофильные гранулоциты		Эозинофилы	Моноциты	Лимфоциты	Эритроидные клетки
		Незрелые	Зрелые				
А. Интактный контроль (6)	13,45±0,15	1,01±0,66	1,73±0,07	0,08±0,03	0,20±0,06	9,61±0,23	0,82±0,06
3 сут после введения доксорубицина							
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	9,00±0,91 А-1 P<0,05	0,80±0,26	1,71±0,37	0,07±0,04	0,13±0,04	5,72±0,62 А-1 P<0,01	0,57±0,19 А-1 P<0,05
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 2 (6)	11,42±0,54 1-2 P<0,05	0,88±0,03	1,63±0,11	0,07±0,02	0,09±0,02	7,22±0,32 1-2 P<0,05	1,53±0,14 1-2 P<0,01
5 сут после введения доксорубицина							
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	10,05±0,64 А-1 P<0,01	0,54±0,03 А-1 P<0,01	1,13±0,06 А-1 P<0,01	0,06±0,02	0,09±0,02 А-1 P<0,05	7,66±0,53 А-1 P<0,05	0,59±0,07 А-1 P<0,05
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 4 (6)	9,84±0,35	0,56±0,04	1,21±0,05	0,03±0,02	0,07±0,03	6,57±0,26	1,41±0,06 1-2 P<0,01
7 сут после введения доксорубицина							
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	13,38±0,73	0,80±0,06 А-1 P<0,05	2,12± 0,29	0,16±0,03 А-1 P<0,05	0,14±0,03	9,34±0,57	0,83±0,10
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 6 (6)	13,31±0,51	0,80± 0,06	1,61± 0,11	0,09±0,02	0,09±0,02	9,98±0,35	0,76±0,04

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Общее количество кариоцитов	Нейтрофильные гранулоциты		Эозинофилы	Моноциты	Лимфоциты	Эритроидные клетки
		Незрелые	Зрелые				
10 сут после введения доксорубицина							
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	14,59±0,41 А-1 P<0,05	0,66±0,05 А-1 P<0,01	1,63±0,11	0,07±0,02	0,08±0,04	11,32±0,36 А-1 P<0,01	0,84±0,05
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 9 (6)	14,29±0,19	0,69±0,06	1,73±0,09	0,10±0,02	0,14±0,02	10,71±0,13	0,92±0,06
12 сут после введения доксорубицина							
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	13,92±0,46	0,71±0,05 А-1 P<0,01	1,56±0,11	0,11±0,03	0,12±0,03	10,55±0,31 А-1 P<0,05	0,87±0,05
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 11 (6)	13,69±0,39	0,81±0,05	1,42±0,06	0,08±0,02	0,11±0,03	9,83±0,37	1,45±0,16 1-2 P<0,01
15 сут после введения доксорубицина							
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	13,57±0,45	0,73±0,03 А-1 P<0,01	1,64±0,10	0,14±0,01	0,13±0,02	10,07±0,38	0,87±0,03
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 14 (6)	14,56±0,48	0,85±0,06	1,78±0,10	0,13±0,01	0,21±0,02 1-2 P<0,05	10,68±0,28	0,91±0,08

цитостатика количество зрелых форм нейтрофильных лейкоцитов было ниже фонового показателя в 1,5 раза ($P<0,01$). Достоверное уменьшение количества лимфоидных элементов в костном мозге наблюдалось на 3 и 5 сут эксперимента. На 10 и 12 сут отмечено увеличение этого показателя в 1,2 и 1,1 раза соответственно. Содержание моноцитов на 5 сут эксперимента было достоверно ниже исходного уровня. Введение доксорубицина приводило также к развитию глубокой депрессии эритроидного ростка кроветворения. Так, на 3, 5 сут после инъекции препарата число эритроидных клеток уменьшилось в 1,4 раза ($P<0,05$) относительно такового у животных интактного контроля. К 7 сут эксперимента регистрировалась нормализация этого показателя (см. таблицу 18).

Назначение АСК S-95 на фоне введения доксорубицина приводило к увеличению общей клеточности костного мозга по сравнению с группой мышей, получавших только цитостатик на 3 сут после введения доксорубицина (см. таблицу 18).

Исследование миелограмм показало, что растительный комплекс стимулирует в основном процесс регенерации эритроидного ростка гемопоэза. Так, содержание эритроидных клеток в костном мозге у мышей, получавших растительный препарат, на 3, 5 и 12 сут превосходило в 2,7; 2,4 и 1,7 раза соответственно значения данного показателя у животных после введения только цитостатика. При использовании АСК S-95 отмечено, что на 3 сут после введения цитостатика число костномозговых лимфоидных клеток было достоверно выше (в 1,3 раза) относительно этого показателя у мышей, получавших доксорубицин. На 15 сут после инъекции цитостатика курсовое использование АСК S-95 привело к увеличению количества моноцитов в костном мозге животных. Достоверного влияния АСК S-95 на гранулоцитопоэз в костном мозге животных на фоне введения доксорубицина не наблюдалось (см. таблицу 18).

Клетки-предшественники эритропоэза

При изучении колониеобразующей способности клеток костного мозга мышей, получавших доксорубицин, выявлена тенденция к снижению уровня КлОЕ-Э на 3, 5 сут после инъекции цитостатика. Начиная с 7 сут наблюдалось достоверное увеличение данного показателя, достигавшее максимального значения к 15 сут после введения доксорубицина (в 2,9 раза выше такового у здоровых животных). Количество КОЕ-Э достоверно снизилось на 3 сут эксперимента в 6,1 раза относительно показателя у мышей в группе интактного контроля. На 10 сут величина указанного показателя временно превысила исходное значение. В последующие сроки исследования (12, 15 сут) число КОЕ-Э не отличалось от значения у животных в группе интактного контроля (таблица 19).

Таблица 19 – Динамика содержания кроветворных клеток-предшественников эритропоэза (КлОЕ-Э, КОЕ-Э) ($\times 10^5$ клеток) в костном мозге у мышей-самок линии C57Bl/6 под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. (АСК S-95) на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество лунок)	КлОЕ-Э	КОЕ-Э
А. Интактный контроль (6)	2,33±0,56	2,00±0,52
3 сут после введения доксорубицина		
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	1,00±0,26	0,33±0,21 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 2 (6)	1,50±0,34	2,33±0,67 1-2 P<0,01
5 сут после введения доксорубицина		
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	2,00±0,45	1,83±0,79
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 4 (6)	2,00±0,37	1,50±0,22
7 сут после введения доксорубицина		
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	4,50±0,62 А-1 P<0,05	3,17±0,48

Группа наблюдений, доза × число введений (количество лунок)	КлОЕ-Э	КОЕ-Э
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 6 (6)	8,33±0,67 1-2 P<0,01	3,50±0,76
10 сут после введения доксорубицина		
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	5,50±0,76 А-1 P<0,01	3,00±1,43 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 9 (6)	5,83±0,79	7,17±1,11 1-2 P<0,05
12 сут после введения доксорубицина		
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	4,33±0,71 А-1 P<0,05	2,67±0,71
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 11 (6)	7,17±0,95 1-2 P<0,05	3,67±0,61
Группа наблюдений, доза × число введений (количество лунок)	КлОЕ-Э	КОЕ-Э
15 сут после введения доксорубицина		
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	6,83±0,60 А-1 P<0,01	2,17±0,31
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 14 (6)	7,33±1,31	3,33±0,42 1-2 P<0,05

Анализ колониеобразующей способности костного мозга мышей после применения антоциансодержащего комплекса из *S. aucuparia* на фоне однократного цитостатического воздействия показал следующие изменения. Возрастание выхода КОЕ-Э отмечалось на 3, 10, 15 сут эксперимента: их количество увеличилось в 7,1; 2,4 и 1,5 раза соответственно относительно этого показателя у мышей, получавших только доксорубицин. Кроме того, на 7 и 12 сут после инъекции цитостатика отмечено стимулирующее действие АСК S-95 в отношении кластерообразующих единиц. Так, количество КлОЕ-Э в эти сроки исследования достоверно возросло в 1,9 и 1,7 раза соответственно относительно величины данного показателя у животных, получавших только доксорубицин (см. таблицу 19).

3.2.2 Влияние антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. на развитие доксорубицин-индуцированной анемии у мышей без опухоли

Периферическая кровь

При изучении показателей периферической крови у мышей без опухоли, получивших доксорубицин, выявлено развитие лейкопении на 3, 5, 7 сут эксперимента, за счёт уменьшения количества лимфоцитов в 1,2 раза ($P<0,05$) относительно показателя у животных в группе интактного контроля (таблица 20).

Помимо этого, использование цитостатика привело к развитию ретикулоцитопении на 3–12 сут эксперимента с последующим восстановлением к 15 сут. Максимальное падение числа ретикулоцитов наблюдалось на 5 сут эксперимента, их количество снизилось в 3,8 раза ($P<0,01$) относительно такового у животных интактного контроля. На 3, 5 сут эксперимента содержание эритроцитов было достоверно ниже относительно этого значения у интактных мышей (см. таблицу 20).

Включение в схему химиотерапии антоциансодержащего комплекса из *A. melanocarpa* в дозе 5 мл/кг привело к стимуляции восстановления только эритроидного ростка кроветворения, угнетенного введением доксорубицина. На 3, 5, 7, 10 и 12 сут эксперимента наблюдалось достоверное повышение количества ретикулоцитов в периферической крови мышей, получавших АСК А-95 совместно с цитостатиком (в 1,5; 3,1; 1,4; 1,1 и 1,1 раза соответственно по сравнению с цитостатическим контролем). На 3, 5, 10 сут после инъекции цитостатика достоверно выше оказались количество эритроцитов и уровень гемоглобина в периферической крови животных, дополнительно получавших растительный комплекс. На 3 и 10 сут эксперимента отмечен более высокий уровень гематокрита по сравнению с таковым у мышей, получавших только цитостатик (см. таблицу 20).

Таблица 20 – Динамика показателей периферической крови у мышей-самок линии C57Bl/6 под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (АСК А-95) на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Общее количество лейкоцитов, хГ/л	Гранулоциты, хГ/л	Лимфоциты, хГ/л	Моноциты, хГ/л	Ретикулоциты, ‰	Эритроциты, $x10^{12}$/л	Гемоглобин, г/л	Гематокрит, %
А. Интактный контроль (6)	15,17±1,04	1,65±0,14	12,82±0,87	0,70±0,05	62,00±2,58	9,90±0,27	17,35±0,46	40,23±1,10
3 сут после введения доксорубицина								
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	13,06±0,69 А-1 P<0,01	1,33±0,16	11,00±0,28 А-1 P<0,05	0,73±0,04	19,33±1,43 А-1 P<0,01	8,72±0,25 А-1 P<0,01	16,20±0,61	37,27±1,33
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 2 (6)	13,17±0,39	1,37±0,08	11,03±0,42	0,77±0,06	28,17±2,80 1-2 P<0,05	10,13±0,24 1-2 P<0,01	17,57±0,37 1-2 P<0,05	40,83±0,84 1-2 P<0,05
5 сут после введения доксорубицина								
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	13,37±1,38 А-1 P<0,05	1,52±0,19	11,02±1,09 А-1 P<0,05	0,82±0,04	16,33±1,86 А-1 P<0,01	8,53±0,10 А-1 P<0,01	16,27±0,20 А-1 P<0,05	39,10±0,85
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 4 (6)	12,62±0,47	1,38±0,14	10,54±0,32	0,70±0,05	51,00±1,81 1-2 P<0,01	9,71±0,20 1-2 P<0,01	17,10±0,20 1-2 P<0,01	39,43±0,48
7 сут после введения доксорубицина								
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	13,35±0,64 А-1 P<0,05	2,03±0,23	10,42±0,83 А-1 P<0,05	0,90±0,07	37,67±1,15 А-1 P<0,01	9,60±0,09	16,57±0,18	38,82±0,32
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 6 (6)	13,11±0,99	1,87±0,29	10,47±0,76	0,77±0,08	52,33±1,62 1-2 P<0,01	9,81±0,27	16,78±0,53	39,37±1,18

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Общее количество лейкоцитов, хГ/л	Гранулоциты, хГ/л	Лимфоциты, хГ/л	Моноциты, хГ/л	Ретикулоциты, ‰	Эритроциты, х10^{12}/л	Гемоглобин, г/л	Гематокрит, %
10 сут после введения доксорубицина								
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	15,11±1,40	2,00±0,26	12,23±0,49	0,88±0,07	47,00±1,39 А-1 P<0,01	9,59±0,20	16,77±0,38	39,02±0,85
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 9 (6)	15,38±0,44	1,60±0,10	12,90±0,63	0,88±0,08	52,33±0,76 1-2 P<0,01	10,41±0,21 1-2 P<0,05	17,85±0,03 1-2 P<0,05	42,23±0,83 1-2 P<0,05
12 сут после введения доксорубицина								
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	13,44±1,99	1,67±0,37	11,17±1,55	0,60±0,11	52,33±1,05 А-1 P<0,01	8,47±1,16	14,67±2,00	34,22±4,66
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 11 (6)	13,56±0,88	1,43±0,15	11,68±0,82	0,45±0,07	55,50±1,15 1-2 P<0,01	9,57±0,27	16,40±0,42	38,38±0,95
15 сут после введения доксорубицина								
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	14,72±1,14	1,45±0,14	12,75±0,92	0,52±0,05	63,67±2,36	10,01±0,24	17,08±0,46	40,60±1,02
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 14 (6)	14,68±1,27	1,43±0,20	12,60±1,05	0,65±0,07	64,83±1,54	10,07±0,14	17,38±0,25	41,72±0,61

Костный мозг

На 3 сут после однократной инъекции мышам доксорубицина в МПД отмечались отчётливые признаки подавления костномозгового кроветворения. Депрессия общего количества кариоцитов сохранялась с 3 по 12 сут. Максимальное падение клеточности костного мозга регистрировалась на 3 сут: ОКК снизилось в 2,0 раза ($P<0,01$) относительно этого значения у интактных мышей. На 15 сут величина данного показателя достоверно не отличалась от значения у животных в группе интактного контроля (таблица 21).

Анализ миелограмм показал, что развитие гипоплазии костномозговой ткани было обусловлено глубоким подавлением всех ростков гемопоэза. На 3–12 сут исследования отмечено достоверное снижение количества незрелых и зрелых нейтрофильных гранулоцитов. На 5, 7, 10, 12 сут эксперимента наблюдалось снижение количества эозинофилов по сравнению с таковым у здоровых животных. Кроме того, на 3, 7, 12 сут регистрировалась моноцитопения. Однократное введение доксорубицина привело к уменьшению числа лимфоидных клеток на 3 и 5 сут эксперимента. Так, количество лимфоцитов в костном мозге мышей было достоверно ниже в 1,8 раза (3 сут) и 1,2 раза (5 сут) относительно показателя у животных в группе интактного контроля. Использование цитостатика также привело к развитию депрессии эритроидного ростка кроветворения: на 3, 5 сут после инъекции препарата число эритроидных клеток уменьшилось в 3,9 и 1,6 раза ($P<0,01$). К 7 сут происходило постепенное восстановление эритроидного ростка кроветворения в костном мозге мышей (см. таблицу 21).

При использовании антоциансодержащего комплекса из *A. melanocarpa* на фоне введения доксорубицина наблюдалась ускоренная регенерация костномозгового кроветворения. На 3–12 сут эксперимента отмечалось повышение общей клеточности костного мозга по сравнению с показателями у мышей в группе получавших цитостатик (см. таблицу 21).

Таблица 21 – Динамика показателей костномозгового кроветворения ($\times 10^6$ клеток/бедро) у мышей-самок линии C57Bl/6 под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (АСК А-95) на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Общее количество кариоцитов	Нейтрофильные гранулоциты		Эозинофилы	Моноциты	Лимфоциты	Эритроидные клетки
		Незрелые	Зрелые				
А. Интактный контроль (6)	12,64±0,68	1,15±0,11	3,17±0,37	0,22±0,07	0,16±0,01	7,29±0,38	0,66±0,10
3 сут после введения доксорубицина							
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	6,31±0,09 А-1Р<0,01	0,58±0,06 А-1Р<0,01	1,41±0,11 А-1Р<0,01	0,09±0,01	0,10±0,02 А-1Р<0,01	3,96±0,15 А-1Р<0,01	0,17±0,02 А-1Р<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 2 (6)	7,79±0,17 1-2Р<0,01	0,51±0,07	1,81±0,11 1-2Р<0,05	0,06±0,01	0,05±0,01 1-2Р<0,05	4,78±0,09 1-2Р<0,01	0,58±0,03 1-2Р<0,01
5 сут после введения доксорубицина							
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	9,18±0,24 А-1Р<0,01	0,63±0,05 А-1Р<0,01	1,74±0,07 А-1Р<0,01	0,05±0,02 А-1Р<0,01	0,13±0,04	6,23±0,18 А-1Р<0,05	0,41±0,03 А-1Р<0,05
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 4 (6)	10,65±0,15 1-2Р<0,01	0,77±0,05	2,26±0,07 1-2Р<0,01	0,03±0,02	0,09±0,01	6,58±0,14	0,92±0,05 1-2Р<0,01
7 сут после введения доксорубицина							
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	9,83±0,12 А-1Р<0,01	0,71±0,04 А-1Р<0,01	1,88±0,07 А-1Р<0,05	0,04±0,02 А-1Р<0,01	0,03±0,01 А-1Р<0,01	6,58±0,14	0,60±0,02
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 6 (6)	10,42±0,14 1-2Р<0,05	0,78±0,04	2,02±0,08 1-2Р<0,05	0,03±0,01	0,06±0,01	6,45±0,14	1,09±0,04 1-2Р<0,01

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Общее количество кариоцитов	Нейтрофильные гранулоциты		Эозино-филы	Моноциты	Лимфоци-ты	Эритроидные клетки
		Незрелые	Зрелые				
10 сут после введения доксорубицина							
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	10,44±0,17 А-1Р<0,01	0,60±0,02 А-1Р<0,01	1,66±0,04 А-1Р<0,05	0,04±0,02 А-1Р<0,01	0,11±0,04	7,25±0,10	0,78±0,03
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 9 (6)	11,03±0,06 1-2Р<0,01	0,67±0,03 1-2Р<0,01	1,79±0,05 1-2Р<0,05	0,06±0,01	0,09±0,03	7,20±0,06	1,23±0,05 1-2Р<0,01
12 сут после введения доксорубицина							
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	11,44±0,18 А-1Р<0,05	0,79±0,04 А-1Р<0,01	1,93±0,05 А-1Р<0,05	0,01±0,01 А-1Р<0,01	0,06±0,02 А-1Р<0,01	7,87±0,13	0,78±0,03
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 11 (6)	12,53±0,14 1-2Р<0,01	0,80±0,03	2,06±0,06	0,06±0,02	0,06±0,02	8,45±0,17 1-2Р<0,05	1,10±0,05 1-2Р<0,01
15 сут после введения доксорубицина							
1. Доксорубицин, 6 мг/кг х 1 (6)	13,43±0,36	1,25±0,12	3,07±0,10	0,23±0,05	0,22±0,04	8,00±0,25	0,66±0,04
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 14 (6)	13,47±0,33	1,10±0,06	2,81±0,13	0,16±0,03	0,15±0,03	8,51±0,22	0,74±0,06

Исследование миелограмм показало, что растительный комплекс стимулирует процессы восстановления эритроидного, гранулоцитарного и лимфоидного ростков гемопоэза. Так, содержание эритроидных клеток в костном мозге мышей, получавших растительный комплекс, на 3–12 сут превосходило значения в группе получавших доксорубицин животных, достигая максимальной разницы на 3 сут эксперимента (в 3,4 раза, $P<0,01$). При введении АСК А-95 совместно с цитостатиком на 3–10 сут эксперимента выше оказалось количество зрелых форм нейтрофильных гранулоцитов в костном мозге мышей. На 10 сут после инъекции цитостатика отмечено повышенное содержание количества незрелых форм нейтрофильных лейкоцитов. Назначение АСК А-95 приводило к более активному восстановлению клеточности лимфоидного ростка кроветворения после повреждения доксорубицином: на 3 и 12 сут исследования число костномозговых лимфоидных клеток было достоверно выше значений в группе мышей, получавшей только доксорубицин, в 1,2 и 1,1 раза соответственно (см. таблицу 21).

Клетки–предшественники эритропоэза

Развитие гипоплазии костного мозга у мышей, получавших цитостатик, сопровождалось выраженными изменениями колонио- и кластерообразующей способности костного мозга. Так, при изучении содержания кроветворных клеток-предшественников эритропоэза в костном мозге у мышей, получавших доксорубицин, выявлено достоверное снижение уровня КлОЕ-Э и КОЕ-Э на 3, 5, 7 сут после инъекции цитостатика. Начиная с 10 сут, наблюдалось восстановление данных показателей. На 15 сут эксперимента показан максимальный рост КлОЕ-Э и КОЕ-Э в 1,5 и 1,7 раза ($P<0,01$) соответственно относительно этих показателей у здоровых животных (таблица 22).

При введении антоциансодержащего комплекса из *A. melanocarpa* на фоне доксорубицина наблюдалось увеличение выхода как КлОЕ-Э, так и КОЕ-Э на 3 и 10 сут эксперимента. Кроме того, стимулирующее действие растительного комплекса в отношении эритроидных прекурсоров в костном мозге мышей отмечено на 5, 12 и 15 сут после инъекции цитостатика. Так, на

12 и 15 сут эксперимента количество КлОЕ-Э достоверно повысилось в 1,4 и 2,0 раза, на 5 сут наблюдалось увеличение числа КОЕ-Э в 3,0 раза относительно этого показателя у получавших только доксорубицин мышей (P<0,01) (см. таблицу 22).

Таблица 22 – Динамика содержания кроветворных клеток-предшественников эритропоэза (КлОЕ-Э, КОЕ-Э) ($\times 10^5$ клеток) в костном мозге у мышей-самок линии C57Bl/6 под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. *(*АСК А-95*)* на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество лунок)	КлОЕ-Э	КОЕ-Э
А. Интактный контроль (6)	7,67±0,71	2,67±0,49
3 сут после введения доксорубицина		
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	4,83±0,83 А-1 P<0,01	1,00±0,45 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 2 (6)	7,50±0,96 1-2 P<0,01	4,17±0,79 1-2 P<0,01
5 сут после введения доксорубицина		
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	4,67±0,49 А-1 P<0,01	0,67±0,33 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 4 (6)	4,33±0,61	2,00±0,37 1-2 P<0,01
7 сут после введения доксорубицина		
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	4,50±0,43 А-1 P<0,05	1,00±0,37 А-1 P<0,05
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 6 (6)	5,83±0,67	2,00±0,37
10 сут после введения доксорубицина		
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	7,67±2,95	2,67±0,76
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 9 (6)	20,67±2,95 1-2 P<0,01	4,67±0,76 1-2 P<0,01
12 сут после введения доксорубицина		
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	7,85±0,71	2,67±0,71
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 11 (6)	10,67±1,67 1-2 P<0,05	3,33±0,61

Группа наблюдений, доза × число введений (количество лунок)	КлОЕ-Э	КОЕ-Э
15 сут после введения доксорубицина		
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	11,17±0,65 А-1 P<0,01	4,50±0,76 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 14 (6)	22,00±2,67 1-2 P<0,05	4,67±0,80

Таким образом, курсовое использование антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* на фоне развития цитостатического анемического синдрома приводит к ускоренной регенерации преимущественно эритроидного ростка кроветворения за счет повышения функциональной активности предшественников эритропоэза в костном мозге мышей, в результате чего наблюдается увеличение количества эритроидных клеток в костном мозге с последующим выходом зрелых эритроцитов в периферическую кровь.

3.3 Разработка новой биологической модели умеренного торможения роста опухоли и метастазов у животных с карциномой легких Льюис с сопутствующей доксорубицин-индуцированной анемией

3.3.1 Влияние доксорубицина в дозе 6 мг/кг на развитие карциномы лёгких Льюис и показатели периферической крови у мышей

При измерении объёма опухоли в динамике (на 12, 15, 17, 20 сут после трансплантации LLC) у животных с карциномой лёгких Льюис обнаружено, что использование доксорубицина однократно, внутрибрюшинно на 10 сут после перевивки опухоли в дозе 6 мг/кг привело к достоверному снижению объёма опухоли на 17 и 20 сут после перевивки LLC – в 1,4 и 1,6 раза соответственно относительно этого показателя у животных контрольной группы (таблица 23).

Таблица 23 – Динамика объёма опухоли ($мм^3$) у мышей-самок линии C57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис под влиянием доксорубицина в дозе 6 мг/кг (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Объем опухоли, $мм^3$, сут после трансплантации LLC			
	12	15	17	20
1. Контроль (10)	94,10±5,69	1314,65± 308,66	2409,80± 284,09	3699,95± 635,77
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (10)	90,85±6,14	860,93± 209,05	1670,70± 424,60 1-2P<0,05	2383,90± 674,73 1-2P<0,01

На 20 сут эксперимента обнаружено, что под влиянием доксорубицина, введенного мышам внутрибрюшинно в дозе 6 мг/кг на 10 сут развития опухоли, масса первичного опухолевого узла уменьшилась в 1,5 раза (P<0,05), ТРО=31%. При использовании цитостатика выявлено ингибирующее влияние на процесс диссеминации. Так, при введении антибластомного препарата в дозе 6 мг/кг для лечения мышей с LLC наблюдалось достоверное снижение площади метастазов в 5,6 раза (таблица 24).

Таблица 24 – Влияние доксорубицина в дозе 6 мг/кг на развитие первичной опухоли и метастазов у мышей-самок линии C57BL/6 с карциномой легких Льюис (20 сут после трансплантации опухоли)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Масса опухоли (M±SD), г	ТРО, %	ЧМ, %	Количество метастазов (M±SD)	Площадь метастазов (M±SD), $мм^2$	ИИМ, %
1. Контроль (10)	4,51±0,56	–	100	23,00±2,36	46,82±10,59	–
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (10)	3,11±0,54 1-2 P<0,05	31	100	16,90±1,80	8,34±2,61 1-2 P<0,01	27

На фоне развития карциномы лёгких Льюис у животных отмечено угнетение эритроидного ростка кроветворения. Так, у мышей наблюдалось снижение содержания эритроцитов, а также падение уровня гемоглобина и

гематокрита в периферической крови на 17 и 20 сут после перевивки опухоли. Ретикулоцитопения наблюдалась только на 20 сут эксперимента: количество ретикулоцитов уменьшилось в 1,2 раза (P<0,01) относительно показателя у животных в группе интактного контроля (таблица 25).

Таблица 25 – Динамика показателей периферической крови (эритроциты, гемоглобин, гематокрит, ретикулоциты) у мышей-самок линии C57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис после введения доксорубицина в дозе 6 мг/кг (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Ретикулоциты, ‰	Эритроциты, x10^{12}/л	Гемоглобин, г/л	Гематокрит, %
А. Интактный контроль (6)	62,33±2,50	10,42±0,18	16,98±0,26	37,13±0,65
3 сут после введения доксорубицина (13 сут эксперимента)				
1. Контроль (10)	61,60±2,42	9,42±0,43	16,35±0,19	34,66±1,41
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (10)	19,20±1,22 1-2 P<0,01	8,45±0,49 1-2 P<0,05	14,06±0,81 1-2 P<0,01	30,96±1,68 1-2 P<0,01
7 сут после введения доксорубицина (17 сут эксперимента)				
1. Контроль (10)	58,80±1,50	9,22±0,17 А-1P<0,01	14,55±0,26 А-1P<0,01	33,02±0,53 А-1P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (10)	20,20±0,89 1-2 P<0,01	7,66±0,42 1-2 P<0,01	12,32±0,61 1-2 P<0,01	29,23±1,18 1-2 P<0,01
10 сут после введения доксорубицина (20 сут эксперимента)				
1. Контроль (10)	50,90±1,64 А-1P<0,01	8,77±0,20 А-1P<0,01	13,26±0,53 А-1P<0,01	29,83±1,20 А-1P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (10)	22,90±1,29 1-2 P<0,01	6,63±0,39 1-2 P<0,01	10,81±0,62 1-2 P<0,01	25,98±1,22 1-2 P<0,05

Однократное внутрибрюшинное введение доксорубицина в дозе 6 мг/кг на 10 сут после перевивки карциномы лёгких Льюис оказывало ингибирующее действие в отношении клеток эритроидного ряда. При введении цитостатика динамика содержания ретикулоцитов характеризовалась развитием ретикулоцитопении на протяжении всего срока исследования. Максимальное падение числа ретикулоцитов наблюдалось на 3 сут после введения цитостатика (13 сут эксперимента): их количество в периферической крови мышей

снизилось в 3,2 раза ($P<0,01$) относительно этого показателя у животных контрольной группы. На 3, 7 и 10 сут после введения антрациклинового антибиотика количество эритроцитов, а также содержание гемоглобина и гематокрита в периферической крови мышей, получавших цитостатик, оставались достоверно ниже таковых у мышей группы нелеченого контроля (см. таблицу 25).

Таким образом, показано, что использование доксорубицина в дозе 6 мг/кг на 10 сут после трансплантации LLC приводит к умеренному торможению роста первичного опухолевого узла и ингибированию развития процесса диссеминации. Кроме того, на фоне введения цитостатика наблюдается развитие анемического синдрома, что выражается в угнетении эритроидного ростка кроветворения.

В настоящее время в экспериментальной онкологии широко исследуются цитостатические препараты, которые наряду с эффективной противоопухолевой и антиметастатической активностью обладают рядом побочных эффектов, в том числе, угнетают эритроидный росток кроветворения. В литературе известны экспериментальные работы по изучению влияния доксорубицина на развитие опухолевых солидных штаммов – карциномы лёгких Льюис, меланомы В-16 и др. (Suggitt M, et al., 2005).

В ходе проведенного эксперимента была разработана новая биологическая модель умеренного торможения роста опухоли и метастазов карциномы лёгких Льюис с индуцированным анемическим синдромом у мышей, которая может быть использована для доклинического изучения веществ различной природы, повышающих эффективность химиотерапии и снижающих её токсическое действие на эритроидный росток кроветворения.

3.4 Влияние антоциансодержащих растительных комплексов на эффективность химиотерапии и реакции системы крови у мышей с карциномой лёгких Льюис при введении доксорубицина

3.4.1 Влияние антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. на эффективность химиотерапии и развитие доксорубицин-индуцированной анемии у мышей с карциномой лёгких Льюис

Эффективность химиотерапии

При измерении объема опухоли в динамике (на 12, 15, 17, 20 сут после трансплантации LLC) у животных с LLC обнаружено, что использование доксорубицина однократно внутрибрюшинно в дозе 6 мг/кг на 10 сут развития опухоли оказало ингибирующее действие на рост первичного опухолевого узла. Так, на 17 и 20 сут после перевивки LLC у мышей, получивших цитостатик в указанной дозе, размер опухоли достоверно уменьшился (в 1,3 и 1,6 раза) относительно такового у животных контрольной группы (таблица 26).

Таблица 26 – Динамика объема опухоли ($мм^3$) у мышей-самок линии C57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. *(*АСК S-95*)* на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза (количество животных)	Объем опухоли, $мм^3$, сут после трансплантации LLC			
	12	15	17	20
1. Контроль (10)	1206,82± 225,39	2444,00± 289,61	3668,91± 635,75	6320,82± 998,40
2. Доксорубицин, 6 мг/кг (10)	1238,64± 191,39	2258,18± 345,69	2801,64± 558,55 1-2P<0,05	3983,68± 706,92 1-2P<0,05
3. Доксорубицин, 6 мг/кг + АСК S-95, 5 мл/кг (10)	1109,25± 226,88	1575,83± 191,20	2343,29± 413,13	3018,30± 726,43

Включение в схему химиотерапии АСК S-95 достоверно не изменило размера опухоли относительно этого показателя у животных группы монохимиотерапии (см. таблицу 26).

В конце эксперимента показано, что при однократном внутрибрюшинном введении доксорубицина животным с карциномой лёгких Льюис масса первичной опухоли снизилась в 1,5 раза (P<0,05) по сравнению с таковой у мышей контрольной группы, торможение роста опухоли составило 33 % (таблица 27).

Таблица 27 – Влияние антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. (АСК S-95) на эффективность лечения доксорубицином мышей-самок линии C57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис (20 сут после трансплантации опухоли)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Масса опухоли (M±SD), г	ТРО, %	ЧМ, %	Количество метастазов (M±SD)	Площадь метастазов (M±SD), мм^2	ИИМ, %
1. Контроль (10)	3,22±0,41	–	100	21,13±1,69	12,48±1,70	–
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (10)	2,15±0,26 1-2 P<0,05	33	100	10,88±1,96 1-2 P<0,01	6,08±1,72 1-2 P<0,01	49
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 9 (10)	1,71±0,26	47	100	2,25±1,15 2-3 P<0,01	0,37±0,27 2-3 P<0,01	89

При использовании цитостатика в указанной дозе выявлено ингибирующее влияние и на процесс диссеминации. Так, на 20 сут после перевивки LLC, при введении доксорубицина животным с опухолью наблюдалось уменьшение количества метастазов в легких в 1,9 раза (P<0,01), а их площади – в 2,1 раза (P<0,01) относительно этих показателей у мышей контрольной группы (см. таблицу 27).

Добавление антоциансодержащего комплекса из *S. aucuparia* в дозе 5 мл/кг в схему лечения доксорубицином не изменило ингибирующего влияния цитостатика на рост первичной опухоли, однако существенно повысило

его противометастатическое действие, что выражалось как в достоверном уменьшении количества (в 4,8 раза), так и площади метастазов в легких (в 16,4 раза) по сравнению с этими показателями у получавших монохимиотерапию животных (см. таблицу 27).

Периферическая кровь

На фоне развития карциномы лёгких Льюис у животных наблюдалось достоверное снижение количества ретикулоцитов на 17, 20 сут эксперимента в 1,4 и 2,6 раза относительно значения этого показателя у здоровых животных. В эти же сроки эксперимента отмечено падение уровня гемоглобина и гематокрита в периферической крови животных, уменьшение количества эритроцитов отмечено на 20 сут эксперимента (таблица 28).

Таблица 28 – Динамика показателей периферической крови (эритроциты, гемоглобин, гематокрит, ретикулоциты) у мышей-самок линии C57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. (АСК S-95) на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Ретикулоциты, ‰	Эритроциты, $\times 10^{12}$/л	Гемоглобин, г/л	Гематокрит, %
А. Интактный контроль (5)	62,60±2,42	9,59±0,48	14,94±0,71	40,58±1,97
3 сут после введения доксорубицина (13 сут эксперимента)				
1. Контроль (5)	59,00±3,82	9,77±0,33	15,80±0,47	38,78±1,17
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	19,20±1,59 1-2 P<0,01	6,71±0,56 1-2 P<0,01	12,08±1,42 1-2 P<0,05	28,92±3,33 1-2 P<0,05
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 2 (5)	28,80±2,15 2-3 P<0,05	8,56±0,45 2-3 P<0,05	12,90±0,57	33,32±1,82
5 сут после введения доксорубицина (15 сут эксперимента)				
1. Контроль (5)	60,40±1,03	9,41±0,28	13,30±0,86	33,74±1,91 А-1 P<0,05
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	20,20±1,93 1-2 P<0,01	7,94±0,30 1-2 P<0,05	12,70±0,39	32,78±0,86
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 4	28,25±1,03 2-3 P<0,01	9,19±0,42 2-3 P<0,05	12,70±0,66	32,60±1,60

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Ретикулоциты, ‰	Эритроциты, $x10^{12}$/л	Гемоглобин, г/л	Гематокрит, %
7 сут после введения доксорубицина (17 сут эксперимента)				
1. Контроль (5)	44,40±2,11 А-1 P<0,01	8,68±0,38 А-1 P<0,05	13,24±0,48 А-1 P<0,05	34,78±1,20 А-1 P<0,05
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	26,00±0,71 1-2 P<0,01	8,20±0,06	12,60±0,14	33,20±0,26
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 6	25,75±0,85	8,13±0,26	12,70±0,43	34,85±1,25
10 сут после введения доксорубицина (20 сут эксперимента)				
1. Контроль (5)	23,80±0,86 А-1 P<0,01	5,97±0,28 А-1 P<0,01	10,40±1,30 А-1 P<0,05	31,12±3,61 А-1 P<0,05
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	32,20±1,93 1-2 P<0,01	7,18±0,44 1-2 P<0,05	12,62±0,98	33,36±2,21
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 9	42,60±1,29 2-3 P<0,01	8,33±0,24 2-3 P<0,05	11,88±0,49	32,18±1,04

Анализ периферической крови у животных с опухолью, получавших только цитостатик, показал развитие ретикулоцитопении (3–7 сут после введения доксорубицина) с последующим восстановлением содержания ретикулоцитов к 10 сут после введения антрациклинового антибиотика. Максимальное падение числа ретикулоцитов наблюдалось на 5 сут после использования цитостатика: их количество в периферической крови мышей с опухолью под действием доксорубицина снизилось в 3,0 раза (P<0,01) относительно такового у контрольных животных. На 3, 5 сут после инъекции цитостатика количество эритроцитов в периферической крови у животных группы монохимиотерапии оставалось достоверно ниже значений у нелеченых мышей. Восстановление количества эритроцитов выше значения в контроле зафиксировано на 10 сут после введения цитостатика (в 1,2 раза, P<0,05). Снижение уровня гематокрита и гемоглобина относительно контрольных значений отмечено на 3 сут после введения доксорубицина (см. таблицу 28).

Курсовое применение антоциансодержащего комплекса из *S. aucuparia* в дозе 5 мг/кг оказало стимулирующий эффект на восстановление эритро-

поэза. Так, на 3, 5 и 10 сут после инъекции цитостатика количество ретикулоцитов у мышей, получавших АСК S-95, оказалось достоверно выше (в 1,5; 1,4; 1,3 раза) относительно такового у животных группы монохимиотерапии. Включение растительного комплекса в схему химиотерапии приводило в эти же сроки исследования к достоверному увеличению содержания общего количества эритроцитов в периферической крови животных относительно этих показателей у мышей, получавших только доксорубицин (см. таблицу 28).

Костный мозг

На фоне развития карциномы лёгких Льюис у животных наблюдалось угнетение костномозгового кроветворения. Снижение общего количества кариоцитов отмечено с 13 по 20 сут эксперимента. Максимальное падение клеточности костного мозга регистрировалось на 20 сут: ОКК снизилось в 1,3 раза ($P<0,01$) относительно этого показателя у мышей интактной группы. При анализе миелограмм было обнаружено угнетение гранулоцитарного (13, 15, 17, 20 сут) и эритроидного (20 сут) ростков гемопоэза (таблица 29).

Введение доксорубицина приводило к еще большему развитию депрессии костномозгового кроветворения, в основном за счет снижения клеточности эритроидного ростка. Так, на 3, 5, 10 сут после введения цитостатика наблюдалось достоверное уменьшение количества эритроидных клеток в костном мозге в 1,8; 1,6; 1,2 раза соответственно относительно этого показателя у мышей контрольной группы. После однократной инъекции доксорубицина на 7 сут наблюдалось снижение числа незрелых нейтрофильных гранулоцитов – в 4,0 раза ($P<0,05$), моноцитов – в 3,7 раза ($P<0,01$) и лимфоцитов ($P<0,01$) относительно этих показателей у животных контроля (см. таблицу 29).

При использовании антоциансодержащего комплекса из *S. aucuparia* на фоне введения доксорубицина наблюдалась более быстрое восстановление костномозгового кроветворения. Так, на протяжении всего эксперимента в группе комбинированной терапии клеточность костного мозга оставалась выше с таковой у животных группы монохимиотерапии (см. таблицу 29).

Таблица 29 – Динамика показателей костномозгового кроветворения ($\times 10^6$ клеток/бедро) мышей-самок линии C57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. *(*АСК S-95) на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Общее количество кариоцитов	Нейтрофильные гранулоциты		Эозинофилы	Моноциты	Лимфоциты	Эритроидные клетки
		Незрелые	Зрелые				
А. Интактный контроль (5)	13,24±0,61	0,70±0,06	2,49±0,16	0,04±0,03	0,32±0,07	8,19±0,33	1,51±0,13
3 сут после введения доксорубицина (13 сут эксперимента)							
1. Контроль (5)	12,68±0,44 А-1 P<0,01	1,07±0,17	0,48±0,13 А-1 P<0,01	0,00±0,00	0,93±0,11 А-1 P<0,01	8,69±0,46	1,50±0,30
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	8,89±0,14 1-2 P<0,01	0,78±0,09	0,17±0,04	0,01±0,01	0,69±0,08	6,41±0,22	0,84±0,10 1-2 P<0,05
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 2 (5)	10,30±0,39 2-3 P<0,05	0,61±0,09	0,25±0,05	0,00±0,00	0,53±0,09	7,33±0,26	1,57±0,07 2-3 P<0,01
5 сут после введения доксорубицина (15 сут эксперимента)							
1. Контроль (5)	10,69±0,73 А-1 P<0,01	0,87±0,13	0,39±0,07 А-1 P<0,01	0,01±0,01	0,98±0,17 А-1 P<0,01	6,46±0,45	1,98±0,17
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	7,63±0,28 1-2 P<0,01	0,56±0,03	0,33±0,05	0,00±0,00	0,63±0,28	4,87±0,39	1,24±0,13 1-2 P<0,05
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 4 (5)	8,69±0,30 2-3 P<0,05	1,03±0,11 2-3 P<0,01	0,95±0,08 2-3 P<0,01	0,02±0,01	0,52±0,19	4,44±0,24	1,74±0,05 2-3 P<0,05

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Общее количество кариоцитов	Нейтрофильные гранулоциты		Эозинофилы	Моноциты	Лимфоциты	Эритроидные клетки
		Незрелые	Зрелые				
7 сут после введения доксорубицина (17 сут эксперимента)							
1. Контроль (5)	10,63±0,70 A-1 P<0,01	2,10±0,62 A-1 P<0,01	0,50±0,19 A-1 P<0,01	0,00±0,00	1,08±0,21 A-1 P<0,01	5,57±0,60	1,37±0,26
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	7,88±0,28 1-2 P<0,01	0,53±0,10 1-2 P<0,05	0,26±0,04	0,00±0,00	0,29±0,05 1-2 P<0,01	5,43±0,28 1-2 P<0,01	1,37±0,06
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг х 6 (5)	8,00±0,13 2-3 P<0,05	0,93±0,09 2-3 P<0,05	0,54±0,07 2-3 P<0,01	0,00±0,00	0,21±0,02	5,55±0,12	0,78±0,02
10 сут после введения доксорубицина (20 сут эксперимента)							
1. Контроль (5)	10,14±0,25 A-1 P<0,01	1,17±0,06 A-1 P<0,01	1,50±0,09 A-1 P<0,01	0,01±0,01	0,14±0,04 A-1 P<0,05	6,39±0,28	0,93±0,04 A-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	7,18±0,19 1-2 P<0,01	0,89±0,07	1,11±0,12	0,02±0,02	0,09±0,03	4,28±0,09	0,78±0,02 1-2 P<0,05
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг х 9 (5)	8,04±0,11 2-3 P<0,01	0,77±0,03	0,88±0,05	0,01±0,01	0,06±0,04	5,07±0,17	1,24±0,04 2-3 P<0,01

Анализ миелограмм показал, что АСК S-95 стимулирует, в основном, процесс восстановления эритроидного ростка кроветворения. Так, содержание эритроидных клеток в костном мозге мышей, получавших растительный препарат, на 3, 5, 10 сут превосходило эти значения у мышей группы монохимиотерапии, достигая максимума на 20 сут эксперимента (в 1,6 раза, $P<0,01$). При включении в схему лечения АСК S-95 на 5, 7 сут после введения цитостатика регистрировалось более высокое содержание зрелых форм нейтрофильных гранулоцитов (в 2,9 и 2,1 раза, $P<0,01$) в костном мозге мышей с опухолью относительно этого показателя у животных, получавших только доксорубицин. Кроме того, у животных в группе комбинированной терапии на 7 сут после введения цитостатика достоверно выше (в 1,8 раза) оказалось число незрелых нейтрофильных гранулоцитов (см. таблицу 29).

Клетки-предшественники эритропоэза

При изучении колониеобразующей способности клеток костного мозга показано, что развитие карциномы легких Льюис привело к достоверному увеличению содержания КлОЕ-Э (в 1,6; 2,2 и 4,8 раза на 13, 15, 20 сут эксперимента соответственно), по сравнению с таковым у здоровых животных. Кроме этого, в костном мозге мышей наблюдался рост числа КОЕ-Э на 15 и 20 сут после перевивки LLC (таблица 30).

Развитие гипоплазии костномозгового кроветворения мышей с опухолью, получавших доксорубицин, сопровождалось выраженными изменениями колоние– и кластерообразующей способности костного мозга. Так, при изучении количества клеток-предшественников эритропоэза выявлено достоверное увеличение уровней КлОЕ-Э и КОЕ-Э на 5 сут после инъекции цитостатика. Начиная с 10 сут после введения доксорубицина наблюдалось их снижение: КлОЕ-Э – в 2,9 раза ($P<0,01$) и КОЕ-Э – 1,8 раза ($P<0,05$) относительно этих показателей у контрольных животных (см. таблицу 30).

Таблица 30 – Динамика содержания кроветворных клеток-предшественников эритропоэза (КлОЕ-Э, КОЕ-Э) ($\times 10^5$ клеток) в костном мозге у мышей-самок линии C57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. *(*АСК S-95*)* на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество лунок)	КлОЕ-Э	КОЕ-Э
А. Интактный контроль (5)	11,00±1,55	1,80±0,66
3 сут после введения доксорубицина (13 сут эксперимента)		
1. Контроль (5)	17,20±3,77 А-1Р<0,01	1,60±0,68
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	19,60±1,50	1,20±0,49
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 2 (6)	18,17±2,09	6,50±1,31 2-3Р<0,01
5 сут после введения доксорубицина (15 сут эксперимента)		
1. Контроль (5)	24,50±0,50 А-1Р<0,01	4,50±0,50 А-1Р<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	40,00±3,39 1-2Р<0,01	9,75±1,31 1-2Р<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 4 (5)	47,40±2,77	8,20±0,86
10 сут после введения доксорубицина (20 сут эксперимента)		
1. Контроль (6)	52,83±5,89 А-1Р<0,01	11,83±5,89 А-1Р<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	18,50±3,78 1-2Р<0,01	6,67±0,95 1-2 Р<0,05
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 9 (6)	62,83±15,04 2-3Р<0,01	21,17±6,89 2-3 Р<0,05

При введении антоциансодержащего комплекса из *S. aucuparia* на фоне доксорубицина наблюдалось достоверное увеличение выхода КОЕ-Э в 5,4 и 3,2 раза на 3 и 10 сут после инъекции цитостатика. Кроме того, стимулирующее действие АСК S-95 в отношении КлОЕ-Э в костном мозге мышей с опухолью отмечено на 10 сут после введения доксорубицина. Так, в этот срок наблюдения количество КлОЕ-Э достоверно повысилось в 3,4 раза (Р<0,01) относительно величины данного показателя у получавших только доксорубицин мышей (см. таблицу 30).

3.4.2 Влияние антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. на эффективность химиотерапии и развитие доксорубицин-индуцированной анемии у мышей с карциномой лёгких Льюис

Эффективность химиотерапии

При измерении объема опухоли в динамике (на 12, 15, 17, 20 сут после трансплантации LLC) у животных с карциномой лёгких Льюис обнаружено, что использование доксорубицина однократно в дозе 6 мг/кг на 10 сут после перевивки LLC оказало ингибирующее действие на рост первичного опухолевого узла на 12 сут эксперимента: отмечено уменьшение объема опухоли в 1,7 раза (P<0,01) относительно контроля (таблица 31).

Таблица 31 – Динамика объема опухоли ($мм^3$) у животных с карциномой лёгких Льюис под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (АСК А-95) на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза (количество животных)	Объем опухоли, $мм^3$, сут после трансплантации LLC			
	12	15	17	20
1. Контроль (10)	1486,90± 147,61	1692,15± 138,69	2702,10 ± 211,28	3667,95 ± 270,39
2. Доксорубицин, 6 мг/кг (10)	899,10 ± 79,37 1-2 P<0,01	1480,70 ± 109,06	2608,40 ± 177,92	3575,15 ± 173,40
3. Доксорубицин, 6 мг/кг + АСК А-95, 5 мл/кг (10)	897,15 ± 121,79	1416,70 ± 165,94	2261,20 ± 390,97 2-3 P<0,05	2995,25 ± 622,33

Комбинированное лечение мышей привело на 17 сут после перевивки LLC к снижению объема первичного опухолевого узла в 1,2 раза (P<0,05), относительно этого показателя у животных, получавших только доксорубицин (см. таблицу 31).

К 20 сут эксперимента под влиянием доксорубицина отмечалась достоверная ингибиция процесса метастазирования, что выразилось в уменьшении количества и площади метастазов в лёгких мышей в 2,0 и 5,0 раз соответственно, ИИМ составил 55 % (таблица 32).

Таблица 32 – Влияние антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (АСК А-95) на эффективность лечения доксорубицином мышей с карциномой лёгких Льюис

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животых)	Масса опухоли (M±SD), г	Торможение роста опухоли, %	Частота метастазирования, %	Количество метастазов на 1 мышь (M±SD)	Площадь метастазов на 1 мышь (M±SD), мм^2	ИИМ, %
1. Контроль (10)	3,56±0,39	–	100	32,80±3,72	55,90±12,11	–
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (10)	2,96±0,30	17	90	16,33±2,78 1-2 P<0,01	11,27±2,23 1-2 P<0,01	55
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 9 (10)	2,80±0,44	21	100	17,33±1,98	10,67±1,86	47

При введении в схему химиотерапии антоциансодержащего комплекса из *A. melanocarpa* в дозе 5 мл/кг противоопухолевая и антиметастатическая активность цитостатика не менялась (см. таблицу 32).

Периферическая кровь

На фоне развития карциномы лёгких Льюис у животных наблюдалось угнетение эритроидного ростка кроветворения. Так, у мышей с опухолью зафиксировано снижение числа эритроцитов, а также падение уровня гемоглобина и гематокрита в периферической крови на 20 сут после перевивки опухоли. Ретикулоцитопения наблюдалась на 17 и 20 сут эксперимента (таблица 33).

Таблица 33 – Динамика показателей периферической крови (эритроциты, гемоглобин, гематокрит, ретикулоциты) у мышей-самок линии C57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. *(*АСК А-95*)* на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Ретикулоциты, ‰	Эритроциты, $\times 10^{12}$/л	Гемоглобин, г/л	Гематокрит, %
А. Интактный контроль (5)	62,60±2,42	10,51±0,64	16,26±1,02	41,64±2,52
3 сут после введения доксорубицина (13 сут эксперимента)				
1. Контроль (5)	61,60±2,16	10,70±0,32	15,90±0,41	42,92±1,45
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	20,40±1,44 1-2 P<0,01	7,61±0,23 1-2 P<0,01	14,56±0,68 1-2 P<0,05	38,38±1,80 1-2 P<0,05
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 2 (5)	30,40±1,33 3-4 P<0,01	9,74±0,20 2-3 P<0,01	13,34±0,79	35,24±1,94
5 сут после введения доксорубицина (15 сут эксперимента)				
1. Контроль (5)	58,40±3,14	9,91±0,28	13,92±0,56	36,78±1,29
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	21,20±1,24 1-2 P<0,01	8,02±0,14 1-2 P<0,05	13,62±0,83	36,2±2,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 4 (5)	21,60±1,08	8,97±0,28 2-3 P<0,01	13,30±0,45	35,38±1,17
7 сут после введения доксорубицина (17 сут эксперимента)				
1. Контроль (5)	52,80±0,86 А-1 P<0,01	9,10±0,48	13,94±0,88	36,36±2,07
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	33,20±2,03 1-2 P<0,01	7,81±0,52	13,82±1,13	36,16±2,76
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 6 (5)	42,00±1,45 2-3 P<0,01	9,29±0,36	12,54±0,59	33,16±1,65
10 сут после введения доксорубицина (20 сут эксперимента)				
1. Контроль (5)	54,00±1,76 А-1 P<0,05	7,14±0,72 А-1 P<0,01	10,16±1,46 А-1 P<0,01	29,96±3,93 А-1 P<0,05
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	37,40±1,96 1-2 P<0,01	7,65±0,50	11,76±0,92	34,72±2,68
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 9 (5)	46,40±1,17 2-3 P<0,01	9,29±0,25 2-3 P<0,05	12,20±0,92	36,1±2,45

На 3 сут после использования цитостатика в периферической крови мышей с опухолью зафиксировано снижение числа ретикулоцитов в 3,0 раза ($P<0,01$), а также количества эритроцитов – в 1,4 раза ($P<0,01$), уровня гемоглобина и гематокрита – в 1,1 раза относительно таковых у животных контрольной группы (см. таблицу 33).

Включение антоциансодержащего комплекса из *A. melanocarpa* в схему химиотерапии привело к снижению токсического действия цитостатика в отношении эритропоэза. Так, при курсовом назначении животным растительного комплекса количество ретикулоцитов оказалось выше в 1,5; 1,3 и 1,2 раза на 3, 7 и 10 сут относительно этого показателя у мышей группы монохимиотерапии. Увеличение количества эритроцитов в периферической крови животных с опухолью на фоне дополнительной терапии зафиксирован на 3, 5 и 10 сут после введения доксорубицина в 1,3; 1,1 и 1,2 раза соответственно. Уровни гематокрита и гемоглобина в группе сочетанного использования доксорубицина и АСК А-95 на протяжении всего эксперимента не изменялись относительно таковых у мышей, получавших только цитостатик (см. таблицу 33).

Костный мозг

На 13 сут после трансплантации LLC отмечено снижение общей клеточности костного мозга. На 15–17 сут эксперимента показано достоверное снижение количества зрелых нейтрофильных гранулоцитов, при этом число незрелых гранулоцитов осталось выше значений у мышей в интактном контроле. На 13, 17, 20 сут наблюдения не отмечено достоверных изменений в отношении клеток эритроидного ростка кроветворения (таблица 34).

В ходе проведенного эксперимента обнаружено, что на 3 сут после однократной внутрибрюшинной инъекции доксорубицина в дозе 6 мг/кг отмечались отчётливые признаки подавления гемопоэза. Депрессия костномозгового кроветворения сохранялась на 5–10 сут исследования. Так, на 5, 7 и 10 сут после введения цитостатика наблюдалось снижение числа кариоцитов в 1,3; 1,2 и 1,2 раза соответственно относительно этого показателя у контрольных животных (см. таблицу 34).

Таблица 34 – Динамика показателей костномозгового кроветворения ($\times 10^6$ клеток/бедро) мышей-самок линии C57BL/6 с карциномой лёгких Льюис под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (АСК А-95) на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Общее количество кариоцитов	Нейтрофильные гранулоциты		Эозино-филы	Моноциты	Лимфоци-ты	Эритроидные клетки
		Незрелые	Зрелые				
А. Интактный контроль (5)	14,34±0,14	0,72±0,08	2,88±0,12	0,04±0,03	0,34±0,06	8,76±0,17	1,60±0,08
3 сут после введения доксорубицина (13 сут эксперимента)							
1. Контроль (5)	13,07±0,95 А-1 P<0,01	1,11±0,20	0,49±0,15 А-1 P<0,01	0,01±0,01	0,95±0,10 А-1 P<0,01	8,95±0,72	1,57±0,33
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	11,89±0,74 1-2 P<0,01	1,04±0,15	0,64±0,08	0,01±0,01	0,93±0,12	8,56±0,56	0,70±0,14 1-2 P<0,05
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 2 (5)	10,94±0,71	0,65±0,11	0,26±0,05	0,00±0,00	0,58±0,13	7,78±0,44	1,66±0,09 2-3 P<0,01
5 сут после введения доксорубицина (15 сут эксперимента)							
1. Контроль (5)	14,10±0,74	1,14±0,14 А-1 P<0,05	0,53±0,10 А-1 P<0,01	0,02±0,02	1,27±0,19 А-1 P<0,01	8,54±0,52	2,61±0,17 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	10,99±0,23 1-2 P<0,01	0,82±0,05 1-2 P<0,01	0,46±0,06	0,00±0,00	0,97±0,47	6,97±0,41 1-2 P<0,01	1,78±0,12 1-2 P<0,05
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 4 (5)	12,03±0,17 2-3 P<0,05	1,35±0,15 2-3 P<0,01	1,35±0,10 2-3 P<0,01	0,04±0,01	0,81±0,23	6,08±0,20	2,40±0,08 2-3 P<0,05
7 сут после введения доксорубицина (17 сут эксперимента)							
1. Контроль (5)	14,41±0,77	2,83±0,82 А-1 P<0,01	0,67±0,26 А-1 P<0,01	0,00±0,00	1,49±0,28 А-1 P<0,01	7,50±0,56	1,92±0,46

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Общее количество кариоцитов	Нейтрофильные гранулоциты		Эозинофилы	Моноциты	Лимфоциты	Эритроидные клетки
		Незрелые	Зрелые				
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	11,76±0,15 1-2 P<0,01	0,84±0,16 1-2 P<0,05	0,40±0,05	0,00±0,00	0,45±0,07 1-2 P<0,01	8,46±0,12	1,61±0,25 1-2 P<0,05
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 6 (5)	12,00±0,13	1,35±0,07 2-3 P<0,01	0,88±0,12 2-3 P<0,01	0,00±0,00	0,34±0,04	8,26±0,22	1,18±0,03
10 сут после введения доксорубицина (20 сут эксперимента)							
1. Контроль (5)	15,11±0,32 А-1 P<0,01	1,76±0,13 А-1 P<0,01	2,24±0,13	0,02±0,02	0,22±0,06	9,50±0,24	1,39±0,08
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	12,41±0,10 1-2 P<0,01	1,54±0,10	1,92±0,18	0,04±0,02	0,16±0,06	7,41±0,10	1,35±0,06
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 9 (5)	13,49±0,19 2-3 P<0,01	1,29±0,06	1,50±0,10	0,01±0,01	0,11±0,06	8,50±0,22	2,08±0,08 2-3 P<0,01

Анализ миелограмм показал, что развитие гипоплазии костномозгового кроветворения было обусловлено глубоким подавлением всех ростков гемопоэза. На 5, 7 сут после использования цитостатического препарата отмечено достоверное снижение количества незрелых нейтрофильных гранулоцитов. Статистически значимое уменьшение количества лимфоцитов в 1,2 раза наблюдалось на 5 сут исследования. Содержание моноцитов на 7 сут после назначения химиотерапии было достоверно ниже (в 3,3 раза) контрольного уровня. Введение доксорубицина приводило также к развитию глубокой депрессии эритроидного ростка кроветворения. Так, на 3, 5 и 7 сут после инъекции препарата число эритроидных клеток уменьшилось в 2,2; 1,5 и 1,2 раза соответственно ($P<0,05$) относительно такового у животных с опухолью. К 10 сут эксперимента регистрировалась нормализация содержания этого показателя (см. таблицу 34).

Назначение приготовленного на 95% этаноле антоциансодержащего комплекса из *A. melanocarpa* на фоне развития цитостатического анемического синдрома привело к стимуляции восстановления костномозгового кроветворения: повышение общей клеточности костного мозга отмечалось на 5 и 10 сут после введения доксорубицина (см. таблицу 34).

Исследование миелограмм показало, что АСК А-95 стимулирует в основном процессы регенерации эритроидного ростка гемопоэза. Так, содержание эритроидных клеток в костном мозге у мышей, получавших АСК А-95, на 3, 5 и 10 сут превосходило в 2,4; 1,3 и 1,5 раза значения данного показателя у животных, леченных только цитостатиком.

Растительный комплекс также стимулировал восстановление гранулоцитарного ростка кроветворения после повреждения цитостатиком. На 5 и 7 сут исследования достоверно выше оказалось число зрелых нейтрофильных гранулоцитов (в 2,9 и 2,2 раза) и незрелых нейтрофильных гранулоцитов (в 1,6 раза) относительно этих показателей у мышей, получавших только химиотерапию (см. таблицу 34).

Клетки-предшественники эритропоэза

При изучении колониеобразующей способности клеток-предшественников эритропоэза выявлено, что на 13, 15 сут развития LLC в костном мозге мышей отмечено повышение содержания КлОЕ-Э и КОЕ-Э, с последующим их снижением к 17 сут до значений в группе здоровых животных (таблица 35).

Таблица 35 – Динамика содержания кроветворных клеток-предшественников эритропоэза (КлОЕ-Э, КОЕ-Э) ($\times 10^5$ клеток/бедро) в костном мозге у мышей-самок линии С57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. *(*АСК А-95*)* на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза (количество лунок)	КлОЕ-Э	КОЕ-Э
3 сут после введения доксорубицина (13 сут эксперимента)		
А. Интактный контроль (6)	24,67±3,23	4,00 ± 1,06
1. Контроль (6)	57,33±10,55 А-1 P<0,05	16,33±4,07 А-1 P<0,05
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	54,00±10,27	15,33±4,70
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 2 (6)	104,83±3,85 2-3 P<0,01	30,67±4,01 2-3 P<0,05
5 сут после введения доксорубицина (15 сут эксперимента)		
А. Интактный контроль (6)	6,67±0,49	3,17±0,60
1. Контроль (6)	30,17±4,17 А-1 P<0,01	6,00±0,77 А-1 P<0,05
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (6)	47,00±5,16 1-2 P<0,05	2,17±0,79 1-2 P<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 4 (6)	26,50±3,13 2-3 P<0,01	2,00±0,45
7 сут после введения доксорубицина (17 сут эксперимента)		
А. Интактный контроль (6)	3,50±0,67	1,33±0,33
1. Контроль (6)	3,25±0,63	1,50±0,29
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	9,60±2,25 1-2 P<0,01	0,80±0,37
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг х 6 (6)	9,67±1,52	2,50±0,22 1-2 P<0,01

На 5 и 7 сут после введения цитостатика мышам с опухолью количества КлОЕ-Э оказалось достоверно выше в 1,6 и 3,0 раза относительно этого показателя у животных в контрольной группе, напротив, на 5 сут выход числа КОЕ-Э в костном мозге снизился в 2,8 раза ($P<0,01$) (см. таблицу 35). Анализ колониеобразующей способности костного мозга мышей с LLC после применения антоциансодержащего комплекса из *A. melanocarpa* на фоне однократного цитостатического воздействия показал следующие изменения. Возрастание выхода КОЕ-Э и КлОЕ-Э наблюдалось на 3 сут после инъекции химиотерапевтического агента: их количество увеличилось в 2,0 и 1,9 раза соответственно относительно этого показателя у мышей, получавших один доксорубицин. Кроме того, на 7 сут после инъекции цитостатика отмечено стимулирующее действие растительного комплекса в отношении КОЕ-Э. Так, количество КОЕ-Э в этот срок исследования выросло в 3,1 раза относительно данного показателя у животных, получавших только цитостатик. На 5 сут выявлено снижение содержания КлОЕ–Э в костном мозге в 1,8 раза ($P<0,01$) (см. таблицу 35).

Таким образом, оценка реакции системы крови у мышей с карциномой лёгких Льюис, получавших растительный комплекс из *Sorbus aucuparia* на фоне использования доксорубицина показала увеличение количества ранних клеток-предшественников эритропоэза, что свидетельствует об активации глубокого резерва эритроидного ростка кроветворения. Аналогичный эффект получен при назначении животным с опухолью антоциансодержащего комплекса из *A. melanocarpa.* Следует отметить, что АСК А-95 запускает выход КОЕ-Э на более ранних сроках, в отличие от АСК S-95.

Полученные данные позволяют сделать заключение о том, что применение антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* у мышей с карциномой лёгких Льюис, получавших доксорубицин, оказывает стимулирующее действие преимущественно на процессы восстановления эритропоэза и, в меньшей степени, гранулоцитопоэза. При этом количество эритроидных клеток в костном мозге мышей с опухолью

после применения АСК А-95 в сочетании с доксорубицином превышало таковое у животных, получавших только цитостатик, начиная с 3-х сут исследования и достигая своего максимума, тогда как введение АСК S-95 максимально увеличило данный показатель только к 10 сут эксперимента. Описанный эффект связан может быть связан с повышением функциональной активности предшественников эритропоэза в костном мозге мышей с опухолью.

Важным критерием при назначении препаратов-корректоров пациентам со злокачественными новообразованиями на фоне химиотерапии является их влияние на противоопухолевую и антиметастатическую эффективность цитостатиков: используемые в дополнительной терапии средства не должны ухудшать эффективность химиотерапевтического лечения. В ходе проведенного исследования показано, что антоциансодержащий комплекс из *A. melanocarpa* не изменяет эффективности цитостатической терапии у мышей с карциномой легких Льюис, тогда как добавление схему лечения доксорубицином АСК из *S. aucuparia* привело к повышению противометастатической активности цитостатика, судя по интегральному показателю угнетения процесса диссеминации – индексу ингибирования метастазирования.

3.5 Механизмы антианемического действия антоциансодержащих растительных комплексов

3.5.1 Коррекция доксорубицин-индуцированной анемии с помощью антоциансодержащих растительных комплексов в сравнении с рекормоном у мышей с карциномой лёгких Льюис

3.5.1.1 Применение антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. для коррекции доксорубицин-индуцированной анемии в сравнении с рекормоном у мышей с карциномой лёгких Льюис

Периферическая кровь

Развитие карциномы лёгких Льюис в периферической крови животных приводило к развитию ретикулоцитопении. На 15, 20 сут эксперимента наблюдалось уменьшение количества эритроцитов, а также уровня гемоглобина в периферической крови животных с опухолью (таблица 36).

Таблица 36 – Динамика показателей периферической крови (эритроциты, гемоглобин, гематокрит, ретикулоциты) у мышей-самок линии C57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. (АСК S-95) и рекормона на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Ретикулоциты, ‰	Эритроциты, х 10^{12}/л	Гемоглобин, г/л	Гематокрит, %
3 сут после введения доксорубицина (13 сут эксперимента)				
А. Интактный контроль (5)	65,80±2,63	12,03±0,24	18,22±0,51	43,93±1,27
1. Контроль (5)	64,80±1,98	11,70±0,07	16,62±0,79	42,14±0,96
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	21,60±1,21 1-2 P<0,01	10,07±0,27 1-2 P<0,05	14,98±0,46 1-2 P<0,05	38,18±1,20 1-2 P<0,01

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Ретикулоциты, ‰	Эритроциты, х 10^{12}/л	Гемоглобин, г/л	Гематокрит, %
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 3 (5)	34,00±1,70 2-3 P<0,05	11,04±0,31 2-3 P<0,05	16,84±0,44 2-3 P<0,05	40,76±1,38 2-3 P<0,05
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 2 (5)	37,00±2,95 2-4 P<0,05	10,80±0,17	16,66±0,51 2-4 P<0,05	40,32±1,19 2-4 P<0,05
5 сут после введения доксорубицина (15 сут эксперимента)				
А. Интактный контроль (5)	68,60±1,03	12,52±0,21	20,00±0,26	47,90±1,32
1. Контроль (5)	62,80±1,59 А-1 P<0,05	11,39±0,28 А-1 P<0,05	17,60±0,20 А-1 P<0,05	46,10±0,69
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	18,80±1,24 1-2 P<0,01	10,12±0,22 1-2 P<0,05	15,16±0,46 1-2 P<0,01	40,50±1,89 1-2 P<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 5 (5)	30,60±1,81 2-3 P<0,01	10,82±0,33	15,72±0,50	41,56±0,94
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 4 (5)	32,00±2,12 2-4 P<0,01	11,22±0,21 2-4 P<0,05	16,06±0,27	40,80±0,50
10 сут после введения доксорубицина (20 сут эксперимента)				
А. Интактный контроль (5)	69,80±2,82	11,13±0,32	18,68±0,77	42,78±1,30
1. Контроль (5)	56,60±2,44 А-1 P<0,01	10,75±0,27 А-1 P<0,05	16,40±0,39 А-1 P<0,05	41,32±0,90
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	36,80±2,48 1-2 P<0,01	9,76±0,38 1-2 P<0,01	15,20±0,57	40,84±1,37
3. Доксорубицин, 6 мг/кг х 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 5 (5)	42,20±1,39 2-3 P<0,05	9,76±0,41	15,12±0,41	40,02±1,04
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 9 (5)	44,20±1,24 2-4 P<0,01 3-4 P<0,05	11,59±0,13 2-4 P<0,05 3-4 P<0,05	17,08±0,30	42,28±1,02

На фоне однократного введения доксорубицина в дозе 6 мг/кг животным с LLC в периферической крови наблюдалось усугубление развития ретикулоцитопении (3–10 сут после введения цитостатика) по отношению к показателям нелеченых мышей. Максимальное падение числа ретикулоцитов отмечено на 5 сут: их количество в периферической крови мышей, получавших доксорубицин, снизилось в 3,3 раза (P<0,01) относительно этого показателя у контрольных животных. На 3, 5 и 10 сут после инъекции доксорубицина количество эритроцитов, а также содержание гемоглобина в периферической крови мышей с опухолью, получавших только цитостатик, оставалось достоверно меньше таковых у животных контроля (см. таблицу 36).

Включение в схему химиотерапии рекормона на все сроки наблюдения приводило к восстановлению содержания количества ретикулоцитов в периферической крови животных с опухолью (в 1,6; 1,6 и 1,1 раза соответственно, $P<0,05$). На 3 сут после введения цитостатика и рекормона отмечено повышение количества эритроцитов, а также содержания гемоглобина и гематокрита в периферической крови мышей с опухолью относительно показателей в группе монохимиотерапии (см. таблицу 36).

Курсовое применение приготовленного на 95% этаноле антоциансодержащего комплекса из *S. aucuparia* в дозе 5 мл/кг оказало стимулирующий эффект на эритропоэз. Так, на 3, 5 и 10 сут после использования цитостатика количество ретикулоцитов у мышей с LLC, получавших АСК S-95, оказалось выше в 1,7; 1,7 и 1,2 раза соответственно относительно этого показателя у мышей, получавших только цитостатик. На 5, 10 сут у животных комбинированной группы оказалось достоверно повышенным общее количество эритроцитов (в 1,1 и 1,2, $P<0,05$). Кроме того, на 3, 10 сут отмечено увеличение содержания гемоглобина и уровня гематокрита в периферической крови относительно этих показателей у получавших только доксорубицин мышей. При сравнении основных показателей эритропоэза в периферической крови на 10 сут отмечено достоверное увеличение количества ретикулоцитов и эритроцитов в указанной группе животных относительно таковых в группе мышей, леченных цитостатиком совместно с референс-препаратом (см. таблицу 36).

Костный мозг

На 15 сут после перевивки развитие карциномы лёгких Льюис привело к достоверному снижению общей клеточность костного мозга за счет угнетения эритроидного ростка кроветворения. Отмечено уменьшение базофильных нормобластов на 13 и 20 сут эксперимента в 1,3 и 1,2 раза, соответственно. На 20 сут после трансплантации LLC достоверно снизилось количество оксиофильных нормобластов (в 2,4 раза) (таблица 37).

Таблица 37 – Динамика показателей костномозгового кроветворения ($\times 10^6$ клеток/бедро) мышей-самок линии C57BL/6 с карциномой лёгких Льюис под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Sorbus auccuparia* L. (АСК S-95) и рекормона на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Общее количество кариоцитов	Нейтрофильные гранулоциты		Эозинофилы	Моноциты	Лимфоциты	Эритробласты	Пронормобласты	Нормобласты		
		Незрелые	Зрелые						Базофильные	Полихроматофильные	Оксифильные
3 сут после введения доксорубицина (13 сут эксперимента)											
А. Интактный контроль (5)	16,54±1,23	0,78±0,08	3,24±0,10	0,02±0,02	0,19±0,03	7,73±0,36	0,56±0,05	0,43±0,07	1,90±0,09	1,02±0,07	0,67±0,23
1. Контроль (5)	15,91±0,32	0,67±0,11	3,12±0,08	0,00±0,00	0,44±0,07 А-1 P<0,05	8,30±0,46	0,42±0,02	0,40±0,07	1,45±0,15 А-1P<0,05	0,83±0,04	0,28±0,15
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	12,37±0,63 1-2 P<0,01	0,75±0,04	2,04±0,21 1-2 P<0,05	0,01±0,01	0,16±0,02 1-2 P<0,05	6,59±0,29 1-2 P<0,05	0,38±0,05	0,32±0,04	1,27±0,06 1-2 P<0,05	0,50±0,04 1-2 P<0,05	0,35±0,12
3.Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 3 (5)	16,11±0,92 2-3 P<0,05	0,95±0,04	1,17±0,27	0,00±0,00	0,29±0,07	8,11±1,20	1,37±0,06 2-3 P<0,01	0,48±0,06 2-3 P<0,05	2,31±0,07 2-3 P<0,01	1,04±0,08 2-3 P<0,01	0,39±0,13
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 2 (5)	15,43±0,63 2-4 P<0,05	1,07±0,09	1,22±0,27	0,00±0,00	0,27±0,06	7,67±0,25	1,29±0,07 2-4 P<0,01	0,39±0,06	2,13±0,06 2-4 P<0,01	0,97±0,06 2-4 P<0,05	0,42±0,13

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Общее количество кариоцитов	Нейтрофильные гранулоциты		Эозинофилы	Моноциты	Лимфоциты	Эритробласты	Пронормобласты	Нормобласты		
		Незрелые	Зрелые						Базофильные	Полихроматофильные	Оксифильные
5 сут после введения доксорубицина (15 сут эксперимента)											
А. Интактный контроль (5)	15,16±0,69	0,72±0,09	2,08±0,40	0,02±0,01	0,17±0,02	8,12±0,72	0,55±0,07	0,39±0,04	1,78±0,19	0,93±0,04	0,40±0,13
1. Контроль (5)	14,20±1,23 А-1 P<0,05	0,62±0,10	2,87±0,06	0,00±0,00	0,41±0,07	7,67±0,36	0,31±0,02 А-1 P<0,05	0,30±0,06	1,11±0,12	0,63±0,04 А-1 P<0,05	0,28±0,15 А-1 P<0,05
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	10,55±0,53 1-2 P<0,01	0,63±0,03	1,79±0,20 1-2 P<0,01	0,01±0,01	0,13±0,02	5,80±0,17 1-2 P<0,05	0,24±0,01 1-2 P<0,01	0,28±0,04	0,86±0,07 1-2 P<0,01	0,44±0,04 1-2 P<0,01	0,37±0,11
3.Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 5 (5)	13,47±0,69 2-3 P<0,05	0,79±0,05	0,97±0,21	0,00±0,00	0,23±0,05	6,75±0,26	1,14±0,07 2-3 P<0,05	0,41±0,06 2-3 P<0,05	1,93±0,08 2-3 P<0,05	0,86±0,07 2-3 P<0,05	0,39±0,13
4.Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг х 4 (5)	13,10±0,95 2-4 P<0,05	0,90±0,08 2-4 P<0,05	1,03±0,23	0,00±0,00	0,23±0,05	6,48±0,25	1,09±0,07 2-4 P<0,05	0,33±0,05	1,80±0,06 2-4 P<0,05	0,82±0,05 2-4 P<0,05	0,42±0,13

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Общее количество кариоцитов	Нейтрофильные гранулоциты		Эозинофилы	Моноциты	Лимфоциты	Эритробласты	Пронормобласты	Нормобласты		
		Незрелые	Зрелые						Незрелые	Зрелые	Незрелые
10 сут после введения доксорубицина (20 сут эксперимента)											
А. Интактный контроль (5)	19,04±1,23	0,94±0,07	3,94±0,16	0,03±0,02	0,23±0,04	9,36±0,31	0,68±0,05	0,41±0,06	1,81±0,09	0,97±0,06	0,67±0,23
1. Контроль (5)	19,16±0,65	0,85±0,15	3,89±0,13	0,00±0,00	0,55±0,09	10,30±0,18	0,52±0,04	0,41±0,07	1,51±0,18 А-1 P<0,05	0,85±0,03	0,28±0,15 А-1 P<0,05
2.Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	11,73±0,78 1-2 P<0,01	0,71±0,03	1,94±0,23 1-2 P<0,01	0,01±0,01	0,15±0,02	6,23±0,27 1-2 P<0,01	0,36±0,04 1-2 P<0,05	0,31±0,04	1,20±0,06 1-2 P<0,01	0,47±0,03 1-2 P<0,01	0,35±0,11
3.Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 5 (5)	18,28±0,78 2-3 P<0,01	0,80±0,04	1,70±0,31	0,00±0,00	0,33±0,08	9,18±0,43	1,55±0,09 2-3 P<0,01	0,54±0,08 2-3 P<0,05	2,62±0,11 2-3 P<0,01	1,17±0,08 2-3 P<0,01	0,39±0,13
4.Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 9 (5)	19,05±0,72 2-4 P<0,01	1,32±0,13 2-4 P<0,05	1,53±0,37	0,00±0,00	0,34±0,08	9,51±0,59 2-4 P<0,05	1,60±0,11 2-4 P<0,05	0,48±0,07	2,64±0,15 2-4 P<0,05	1,21±0,11 2-4 P<0,05	0,42±0,13

На 3 сут после однократной инъекции доксорубицина в МПД отмечались отчётливые признаки подавления костномозгового кроветворения. Депрессия общего количества кариоцитов сохранялась с 3 по 10 сут после введения цитостатика. Максимальное падение клеточности костного мозга регистрировалась на 10 сут: ОКК снизилось в 1,6 раза ($P<0,01$) относительно этого значения у контрольной группы мышей (см. таблицу 37).

Анализ миелограмм показал, что развитие гипоплазии костномозговой ткани было обусловлено глубоким подавлением всех ростков гемопоэза. На 3–10 сут после инъекции цитостатика отмечено достоверное снижение количества зрелых нейтрофильных гранулоцитов. На 3 сут регистрировалась моноцитопения. Однократное введение доксорубицина привело к уменьшению числа лимфоидных клеток на 3, 5 и 10 сут после введения доксорубицина. Так, количество лимфоцитов в костном мозге мышей было достоверно ниже в 1,3 раза (3 сут); 1,3 раза (5 сут) и 1,7 раза (10 сут) относительно показателя у животных с опухолью. Использование цитостатика также привело к развитию депрессии эритроидного ростка кроветворения: на 3–10 сут после инъекции препарата число базофильных и полихроматофильных нормобластов достоверно уменьшилось. На 5 и 10 сут отмечено снижение количества эритробластов в костном мозге животных в 1,3 и 1,4 раза, соответственно (см. таблицу 37).

На 3–10 сут после инъекции доксорубицина, включение рекормона в схему химиотерапии привело к восстановлению общей клеточности костного мозга у животных с опухолью за счёт увеличения костномозговых клеток эритроидного ряда.

При использовании АСК S-95 на фоне введения доксорубицина наблюдалась ускоренная регенерация костномозгового кроветворения. На 3–10 сут после назначения цитостатика отмечалось повышение общей клеточности костного мозга по сравнению с показателем в получавшей цитостатик группе животных (см. таблицу 37).

Исследование миелограмм показало, что растительный комплекс стимулирует процессы восстановления эритроидного, гранулоцитарного и лимфоидного ростков гемопоэза. Так, содержание эритробластов, базофильных и полихроматофильных нормобластов в костном мозге в группе мышей с опухолью, получавших АСК S-95, на 3–10 сут превосходило значения в группе мышей, получавших доксорубицин. При введении антоциансодержащего комплекса совместно с цитостатиком на 5 и 10 сут после инъекции антрациклинового антибиотика регистрировалось увеличение содержания незрелых форм нейтрофильных гранулоцитов в костном мозге мышей в 1,4 и 1,9 раза, соответственно. Назначение АСК S-95 приводило к более активному восстановлению клеточности лимфоидного ростка кроветворения после повреждения доксорубицином: на 10 сут после введения цитостатика число костномозговых лимфоидных клеток было достоверно выше таковых значений у мышей в группе, получавших цитостатик, в 1,5 раза. Сравнительный анализ основных показателей эритропоэза в костном мозге животных с опухолью, получавших совместно с цитостатиком АСК S-95, не выявил значимых различий с группой мышей, которым был назначен рекормон на фоне использования доксорубицина (см. таблицу 37).

Клетки-предшественники эритропоэза

В ходе дальнейших исследований было показано, что развитие карциномы лёгких Льюис привело к достоверному увеличению содержания КлОЕ-Э (в 1,4; 1,4 и 1,2 раза на 13, 15 и 20 сут эксперимента соответственно) по сравнению с показателями у здоровых животных. Кроме этого, в костном мозге мышей с опухолью наблюдался рост числа КОЕ-Э на 13 и 15 сут после перевивки LLC. В эти же сроки эксперимента индекс созревания оставался достоверно снижен, что может свидетельствовать о низкой дифференцировке клеток-предшественников (таблица 38).

Развитие гипоплазии костномозгового кроветворения мышей с опухолью, получавших доксорубицин, сопровождалось выраженными изменениями колонио- и кластерообразующей способности костного мозга. Так, при

изучении количества клеток-предшественников эритропоэза в костном мозге мышей с карциномой лёгких Льюис, получавших доксорубицин, выявлено достоверное снижение уровня КлОЕ-Э и КОЕ-Э на 5 сут (6,2 и 1,7 раза, P<0,05) и 10 сут (1,4 и 1,5 раза, P<0,05) после инъекции цитостатика относительно этих показателей у контрольных животных. На 3 сут после введения антибластомного препарата интенсивность дифференцировки была увеличена с ее последующим снижением к 5 сут эксперимента (см. таблицу 38).

Таблица 38 – Динамика содержания кроветворных клеток-предшественников эритропоэза (КлОЕ-Э, КОЕ-Э) ($\times 10^5$ клеток/бедро) и интенсивности созревания КОЕ-Э (индекс созревания) в костном мозге у мышей-самок линии C57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. *(*АСК S-95*)* и рекормона на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество лунок)	КлОЕ-Э	КОЕ-Э	Индекс созревания
3 сут после введения доксорубицина (13 сут эксперимента)			
А. Интактный контроль (5)	12,50±3,18	1,50±0,60	8,33±0,64
1. Контроль (5)	17,50±1,85 А-1 P<0,01	3,75±0,48 А-1P<0,01	4,70±0,67 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	16,50±2,10	2,75±0,25	6,00±1,20 1-2 P<0,05
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 3 (5)	64,50±15,92 2-3 P<0,01	8,00±1,87 2-3 P<0,01	8,00±2,10 2-3 P<0,01
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 2 (5)	34,75±2,39 2-4 P<0,01 3-4 P<0,05	4,25±0,95 2-4 P<0,01 3-4 P<0,05	8,18±0,90 2-4 P<0,01
5 сут после введения доксорубицина (15 сут эксперимента)			
А. Интактный контроль (5)	20,50±3,71	1,25±0,30	16,40±0,31
1. Контроль (5)	27,75±1,11 А-1 P<0,01	2,50±0,29 А-1P<0,05	11,10±0,34 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг х1 (5)	4,50±1,85 1-2 P<0,01	1,50±0,65 1-2 P<0,05	3,00±0,20 1-2 P<0,05
3. Доксорубицин, 6 мг/кг х 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 5 (5)	12,50±2,10 2-3 P<0,01	3,75±0,48 2-3 P<0,05	3,33±0,52
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 4 (5)	12,00±1,47 2-4 P<0,01	3,50±0,29 2-4 P<0,05	3,43±0,21

Группа наблюдений, доза × число введений (количество лунок)	КлОЕ-Э	КОЕ-Э	Индекс созревания
10 сут после введения доксорубицина (20 сут эксперимента)			
А. Интактный контроль (5)	50,75±3,75	8,25±1,49	6,15±1,11
1. Контроль (5)	59,00±9,23 А-1 P<0,01	9,00±1,95	6,56±1,91
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	42,75±1,80 1-2 P<0,05	6,00±0,58 1-2 P<0,05	7,96±1,20
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 5 (5)	44,25±6,69	11,75±2,43 2-3 P<0,05	3,77±0,68 2-3 P<0,01
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 9 (5)	99,75±7,04 2-4 P<0,01 3-4 P<0,05	20,75±2,56 2-4 P<0,05 3-4 P<0,05	4,80±0,96 2-4 P<0,01

Во все сроки наблюдения отмечено, что добавление в схему химиотерапии рекормона привело к увеличению колониеобразующей активности клеток-предшественников эритропоэза. Так, число КОЕ-Э на 3, 5, 10 сут после использования доксорубицина выросло в 2,9; 2,5 и 2,0 раза (P<0,05) соответственно относительно этого показателя у животных группы монохимиотерапии; увеличение содержания КлОЕ-Э отмечалось также на 3 и 5 сут (в 3,9 и 2,8 раза, P<0,01). При этом индекс созревания на фоне использования референс-препарата на 3 сут после инъекции цитостатика оказался достоверно выше относительно показателя у мышей в группе, получавших доксорубицин. На 5 и 10 сут не было выявлено усиления интенсивности дифференцировки у животных этой группы (см. таблицу 38).

При использовании АСК *S. aucuparia* на фоне доксорубицина наблюдалось достоверное увеличение выхода КОЕ-Э в 1,5; 2,3 и 3,5 раза на 3, 5 и 10 сут после введения доксорубицина. Кроме того, в эти сроки отмечено стимулирующее действие АСК S-95 в отношении КлОЕ-Э в костном мозге мышей с опухолью. Так, количество КлОЕ-Э повысилось на 3 сут – в 2,1 раза (P<0,01), на 5 сут – в 2,7 раза (P<0,01), на 10 сут – в 2,3 раза (P<0,01) относительно величины данного показателя у получавших только доксорубицин мышей. Следует отметить, что на 10 сут после использования цитостатика курсовое введение АСК S-95 привело к достоверному росту клеток-

предшественников эритропоэза относительно этого показателя у животных, получавших химиотерапию совместно с референс-препаратом: КОЕ-Э – в 1,8 раза (P<0,05), КлОЕ-Э – 2,3 раза (P<0,05). Усиление интенсивности дифференцировки на фоне комбинированного использования растительного комплекса совместно с цитостатиком было отмечено на 3 сут после введения доксорубицина (см. таблицу 38).

Уровень эритропоэтической активности в кондиционных средах костного мозга

При изучении эритропоэтической активности в кондиционных средах показано, что развитие опухоли неоднозначно влияет на продукцию прилипающими клетками костного мозга ЭПА. Так, на 13 и 15 сут эксперимента наблюдалось усиление выработки ЭПА (в 2,3 и 3,2 раза соответственно, P<0,01) относительно этого показателя у здоровых животных. Начиная с 20 сут эксперимента отмечено снижение уровня эритропоэтической активности клеток костного мозга у животных с LLC (таблица 39).

При оценке продукции ЭПА неадгезирующими элементами костного мозга установлено, что при развитии карциномы лёгких Льюис на 15 сут эксперимента происходит увеличение уровня этого показателя в 1,6 раза (P<0,05) с последующим его падением к 20 сут (см. таблицу 39). На 3 и 10 сут после ведения доксорубицина экспериментальным животным с опухолью наблюдалось увеличение продукции эритропоэтической активности неадгезирующими клетками. На 5 сут, напротив, отмечено падение уровня этого показателя как в супернатантах от прилипающих (в 1,3 раза, P<0,05), так и от неприлипающих (в 4,5 раза, P<0,01) элементов костного мозга по сравнению с показателями в группе нелеченых мышей (см. таблицу 39).

На 3 сут после использования цитостатика включение в схему химиотерапии рекормона привело к достоверному снижению в 2,5 раза продукции ЭПА неадгезирующими клетками костного мозга, с последующим ее увеличением к 5 сут (в 1,7 раза, P<0,01) относительного показателей в группе животных, получавших только доксорубицин (см. таблицу 39).

Таблица 39 – Изменение уровня эритропоэтической активности кондиционной среды клеток костного мозга мышей-самок линии C57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. (АСК S-95) и рекормона на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество лунок)	Адгезирующие клетки	Неадгезирующие клетки
3 сут после введения доксорубицина (13 сут эксперимента)		
А. Интактный контроль (5)	1,20±0,49	0,40±0,24
1. Контроль (5)	2,80±0,86 А-1 P<0,01	0,40±0,24
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	2,00±0,70	2,50±0,96 1-2 P<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 3 (5)	2,50±0,65	1,00±0,71 2-3 P<0,05
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 2 (5)	2,80±0,80 2-4 P<0,05	6,20±1,16 2-4 P<0,01 3-4 P<0,01
5 сут после введения доксорубицина (15 сут эксперимента)		
А. Интактный контроль (5)	0,00±0,00	11,60±1,47
1. Контроль (5)	3,20±0,37 А-1 P<0,01	18,80±1,24 А-1 P<0,05
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	2,40±0,68 1-2 P<0,05	4,20±1,02 1-2 P<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 5 (5)	1,00±0,77	7,00±2,30 2-3 P<0,01
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 4 (5)	4,00±0,45 2-4 P<0,05	7,40±1,21 2-4 P<0,01
10 сут после введения доксорубицина (20 сут эксперимента)		
А. Интактный контроль (5)	1,40±0,24	1,60±0,40
1. Контроль (5)	0,40±0,24 А-1 P<0,01	0,20±0,20 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	0,40±0,24	1,00±0,45 1-2 P<0,05
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 5 (5)	0,80±0,58	0,60±0,24
4. Доксорубицин, 6 мг/кг х 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 6 (5)	0,48±0,15	0,92±0,32

На 3 и 5 сут после введения доксорубицина совместно с антоциансодержащим комплексом из *S. aucuparia* наблюдалось усиление продукции

эритропоэтической активности неадгезирующими клетками костного мозга. Так, этот показатель достоверно возрос на 3 сут – в 2,5 раза, на 5 сут – в 1,8 раз по сравнению с группой монохимиотерапии. Кроме того, на 3 сут отмечено, что продукция ЭПА неадгезирующими клетками у мышей, где использовался АСК S-95, превосходил таковой в группе животных, получавших рекормон. На 3 и 5 сут отмечена стимуляция продукции эритропоэтической активности адгезирующими клетками костного мозга у мышей, получавших АСК S-95 совместно с доксорубицином (см. таблицу 39).

Уровень эритропоэтической активности в сыворотке периферической крови

При изучении эритропоэтической активности в сыворотке периферической крови мышей с карциномой лёгких Льюис показано, что во все сроки эксперимента развитие опухоли не изменило продукции ЭПА, в то время как введение доксорубицина привело к снижению выработки ЭПА (таблица 40).

Таблица 40 – Изменение уровня эритропоэтической активности в сыворотке периферической крови мышей-самок линии C57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. (АСК S-95) и рекормона на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество лунок)	ЭПА
3 сут после введения доксорубицина (13 сут эксперимента)	
А. Интактный контроль (5)	0,88±0,68
1. Контроль (5)	0,50±0,42
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	0,41±0,10 1-2 P<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 3 (5)	3,50±0,42 2-3 P<0,01
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 2 (5)	3,00±0,74 2-4 P<0,01

Группа наблюдений, доза × число введений (количество лунок)	ЭПА
5 сут после введения доксорубицина (15 сут эксперимента)	
А. Интактный контроль (5)	1,00±0,41
1. Контроль (5)	0,88±0,30
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	0,61±0,36 1-2 P<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 5 (5)	3,00±0,72 2-3 P<0,01
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 4 (5)	3,41±0,40 2-4 P<0,01
10 сут после введения доксорубицина (20 сут эксперимента)	
А. Интактный контроль (5)	0,95±0,20
1. Контроль (5)	0,75±0,15
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	0,44±0,30 1-2 P<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 5 (5)	3,56±0,21 2-3 P<0,01
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 6 (5)	4,00±0,20 2-4 P<0,01

На 3–10 сут комбинированное использование рекормона с цитостатиком привело к усилению продукции эритропоэтической активности сыворотки периферической крови. Аналогичные результаты получены при назначении антоциансодержащего комплекса из *S. aucuparia* совместно с антибластомным препаратом. Так на 3, 5 и 10 сут после введения доксорубицина отмечена стимуляция выработки ЭПА (в 7,3; 5,6 и 9,0 раз, соответственно) сывороткой крови мышей с опухолью на фоне курсового использования АСК S-95 (см. таблицу 40).

Определение эритропоэтина в адгезивной кондиционной среде костного мозга

При определении методом иммуноферментного анализа концентрации эритропоэтина в адгезивной кондиционной среде костного мозга мышей с карциномой лёгких Льюис на 13 сут наблюдалось достоверное повышение значения этого показателя в 5,4 раза по сравнению с исходным контролем, с последующим его падением на 15–20 сут эксперимента (таблица 41).

Таблица 41 – Изменение уровня содержания эритропоэтина в адгезивной кондиционной среде костного мозга (мМЕ/мл) мышей-самок линии C57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. (АСК S-95) и рекормона на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество лунок)	ЭПО
3 сут после введения доксорубицина (13 сут эксперимента)	
А. Интактный контроль (4)	0,17±0,02
1. Контроль (4)	0,92±0,19 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (4)	0,03±0,01 1-2 P<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 3 (4)	0,05±0,02
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 2 (4)	0,34±0,04 2-4 P<0,01 3-4 P<0,05
5 сут после введения доксорубицина (15 сут эксперимента)	
А. Интактный контроль (4)	0,18±0,06
1. Контроль (4)	0,04±0,01 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (4)	0,04±0,02
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 5 (4)	0,05±0,02
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 4 (4)	0,46±0,0,04 2-4 P<0,01 3-4 P<0,05
10 сут после введения доксорубицина (20 сут эксперимента)	
А. Интактный контроль (4)	0,17±0,01
1. Контроль (4)	0,03±0,01 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (4)	0,04±0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 5 (4)	0,04±0,01
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 6 (4)	0,15±0,01 2-4 P<0,01 3-4 P<0,01

Однократное введение доксорубицина привело к снижению концентрации эритропоэтина в прилипающей кондиционной среде на 3 сут после использования антибластомного препарата относительно такового показателя у мышей с опухолью. На 5 и 10 сут уровень ЭПО в группе животных по-

сле введения антрациклинового антибиотика не отличался от показателей у нелеченых мышей (см. таблицу 41).

На 3–10 сут после введения цитостатика включение в схему химиотерапии рекормона не изменило концентрации изучаемого цитокина относительно значений в группе животных, получавших только доксорубицин. При назначении АСК S-95 совместно с доксорубицином отмечено достоверное повышение концентрации эритропоэтина в адгезивной кондиционной среде костного мозга мышей с опухолью. Так, на 3, 5 и 10 сут после инъекции цитостатика значения изучаемого показателя оказались выше в 11,3; 11,5 и 3,8 раза соответственно относительно показателей в группе монохимиотерапии. Кроме того, на 5 сут наблюдалась превосходство значения данного показателя в этой группе животных относительно такового у получавших референс-препарат (см. таблицу 41).

Определение эритропоэтина в сыворотке периферической крови

Оценка содержания эритропоэтина в сыворотке крови животных с LLC показала, что на 10 сут развития карциномы лёгких Льюис наблюдалось снижение данного показателя в 1,2 раза ($P<0,01$) относительно исходных значений (таблица 42).

Однократное введение доксорубицина в дозе 6 мг/кг привело к снижению содержания изучаемого цитокина в сыворотке крови. Напротив, комбинирование назначение референс-препарата с цитостатиком привело к росту концентрации эритропоэтина в 2,3 раза ($P<0,01$) (см. таблицу 42).

Курсовое введение мышам антоциансодержащего комплекса из *S. aucuparia* совместно с цитостатиком привело к повышению концентрации ЭПО в сыворотке крови в 2,5 раза ($P<0,01$). Следует отметить, что данный показатель превосходил таковой у животных, получавших референс-препарат на фоне использования антибластомного препарата (см. таблицу 42).

Таблица 42 – Изменение уровня содержания эритропоэтина в сыворотке периферической крови (мМЕ/мл) мышей-самок линии C57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Sorbus aucuparia* L. (АСК S-95) и рекормона на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество лунок)	ЭПО
10 сут после введения доксорубицина (20 сут эксперимента)	
А. Интактный контроль (4)	64,00±0,71
1. Контроль (4)	53,21±0,81 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (4)	20,30±0,15 1-2 P<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 5 (4)	45,82±1,20 2-3 P<0,01
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 6 (4)	50,34±1,74 2-4 P<0,01 3-4 P<0,05

3.5.1.2 Применение антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott для коррекции доксорубицин-индуцированной анемии в сравнении с рекормоном у мышей с карциномой лёгких Льюис

Периферическая кровь

На фоне развития карциномы лёгких Льюис у животных наблюдалось достоверное снижение количества ретикулоцитов на 17 сут эксперимента в 1,2 раза соответственно, относительно значения этого показателя у здоровых животных. На этот срок наблюдения отмечено падение уровня гемоглобина и гематокрита, а также уменьшение количества эритроцитов в периферической крови нелеченых животных с опухолью (таблица 43).

Таблица 43 – Динамика показателей периферической крови (эритроциты, гемоглобин, гематокрит, ретикулоциты) у мышей-самок линии C57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (АСК А-95) и рекормона на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Ретикулоциты, ‰	Эритроциты, х 10^{12}/л	Гемоглобин, г/л	Гематокрит, %
3 сут после введения доксорубицина (13 сут эксперимента)				
А. Интактный контроль (5)	62,20±2,50	11,80±0,35	18,12±0,55	46,42±1,31
1. Контроль (5)	63,00±2,49	11,51±0,17	17,42±0,35	44,84±0,62
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	20,80±1,16 1-2 P<0,01	10,29±0,50 1-2 P<0,05	15,52±0,72 1-2 P<0,05	40,34±1,92 1-2 P<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 3 (5)	34,40±3,14 2-3 P<0,01	11,60±0,18 2-3 P<0,05	17,40±0,32 2-3 P<0,05	46,28±0,72 2-3 P<0,01
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 2 (5)	35,00±2,85 2-4 P<0,01	11,09±0,20	16,44±0,24	45,42±0,56
5 сут после введения доксорубицина (15 сут эксперимента)				
А. Интактный контроль (5)	67,40±2,04	10,46±0,34	16,30±0,62	41,38±1,48
1. Контроль (5)	65,60±1,99	10,15±0,32	16,02±0,47	40,24±1,25
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	19,40±1,63 1-2 P<0,01	9,58±0,09 1-2 P<0,05	16,34±0,52	40,50±1,89
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 5 (5)	33,60±1,81 2-3 P<0,01	11,60±0,28 2-3 P<0,01	16,28±0,24	41,40±0,76
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 4 (5)	32,00±3,36 2-4 P<0,01	10,54±0,33 2-4 P<0,05	16,34±0,61	41,84±1,13
7 сут после введения доксорубицина (17 сут эксперимента)				
А. Интактный контроль (5)	65,60±1,89	11,54±0,42	17,24±0,57	48,56±1,61
1. Контроль (n=5)	56,80±1,93 А-1 P<0,01	10,64±0,37 А-1 P<0,05	15,72±0,40 А-1 P<0,05	45,22±1,57 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	30,40±1,50 1-2 P<0,01	9,89±0,26	15,96±0,52	43,88±1,08
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 5 (5)	50,60±1,08 2-3 P<0,05	9,87±0,79	15,90±0,66	42,14±3,29

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Ретикулоциты, ‰	Эритроциты, х 10^{12}/л	Гемоглобин, г/л	Гематокрит, %
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 6 (5)	51,60±2,16 2-4 P<0,01	9,97±0,28	15,46±0,56	42,98±0,74

Анализ периферической крови у мышей с опухолью, получавших только цитостатик, показал развитие ретикулоцитопении. На 5 сут после введения цитостатика отмечено максимальное падение числа ретикулоцитов: их количество в периферической крови мышей под действием доксорубицина снизилось в 3,4 раза (P<0,01) относительно такового у контрольных животных. На 3 и 5 сут после инъекции цитостатика количество эритроцитов в периферической крови у животных группы монохимиотерапии оставалось достоверно ниже значений у мышей контрольной группы. Снижение уровня гематокрита и гемоглобина относительно контрольных значений отмечено на 3 сут после введения доксорубицина (см. таблицу 43).

При совместном использовании рекормона с доксорубицином в периферической крови мышей с карциномой лёгких Льюис наблюдались следующие изменения: количество ретикулоцитов на 3, 5 и 7 сут после использования цитостатика оказалось выше в 1,7 раза (P<0,05), на 3 и 5 сут после введения доксорубицина повышенным оказалось количество эритроцитов, а на 3 сут – уровень гематокрита относительно таковых показателей у животных группы монохимиотерапии (см. таблицу 43).

Включение антоциансодержащего комплекса из *A. melanocarpa* в схему химиотерапии привело к снижению токсического эффекта цитостатика в отношении ретикулоцитов и эритроцитов. Так, при курсовом назначении животным АСК А-95 число ретикулоцитов оказалось выше в 1,7; 1,6 и 1,7 раза на 3, 5 и 7 сут относительно этого показателя у мышей группы монохимиотерапии. Увеличение количества эритроцитов в периферической крови животных с опухолью на фоне дополнительной терапии зафиксировано на 5 сут после введения доксорубицина. Уровни гематокрита и гемоглобина на про-

тяжении всего эксперимента не изменялись относительно таковых у мышей, получавших только цитостатик. При сравнении двух групп животных, получавших совместно с доксорубицином антоциансодержащий комплекс из *A. melanocarpa* либо рекормон не было обнаружено статистически значимых различий в показателях эритропоэза в периферической крови мышей с опухолью (см. таблицу 43).

Костный мозг

Развитие карциномы лёгких Льюис привело к подавлению костномозгового кроветворения. Так, на 15 и 17 сут эксперимента отмечено снижение общего количества кариоцитов в 1,1 и 1,8 раза ($P<0,05$) соответственно относительного показателя в группе здоровых животных (таблица 44).

Исследование миелограмм показало, что на 13 и 15 сут эксперимента развитие опухоли приводит к угнетению эритроидного ростка. В эти сроки исследования отмечено достоверное снижение базофильных и полихроматофильных нормобластов. Также на 15 сут наблюдалось уменьшение количества эритробластов в 1,7 раза ($P<0,05$) в костном мозге животных с опухолью. На 17 сут эксперимента регистрировалось подавление всех ростков кроветворения. Отмечено снижение числа зрелых нейтрофильных гранулоцитов в 1,8 раза ($P<0,05$), лимфоцитов – 1,6 раза ($P<0,05$) относительно показателей в интактном контроле. Также наблюдалось достоверное уменьшение количества эритробластов, пронормобластов, а также всех форм нормобластов в костном мозге мышей с карциномой лёгких Льюис (см. таблицу 44).

На 3, 5 сут после однократной инъекции доксорубицина в МПД отмечались отчётливые признаки дополнительного подавления костномозгового кроветворения. Максимальное падение клеточности костного мозга регистрировалась на 5 сут: ОКК снизилось в 1,8 раза ($P<0,01$) относительно этого значения у мышей в контрольной группе. На 7 сут после использования цитостатика величина данного показателя достоверно не отличалась от значения в группе животных с опухолью (см. таблицу 44).

Таблица 44 – Динамика показателей костномозгового кроветворения ($\times 10^6$ клеток/бедро) мышей-самок линии C57BL/6 с карциномой лёгких Льюис под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (АСК А-95) и рекормона на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Общее количество кариоцитов	Нейтрофильные гранулоциты		Эозинофилы	Моноциты	Лимфоциты	Эритробласты	Пронормобласты	Нормобласты		
		Незрелые	Зрелые						Базофильные	Полихроматофильные	Оксифильные
3 сут после введения доксорубицина (13 сут эксперимента)											
А. Интактный контроль (5)	16,54±1,24	0,78±0,08	3,24±0,10	0,02±0,02	0,19±0,03	7,73±0,36	0,56±0,05	0,43±0,07	1,90±0,09	1,02±0,07	0,67±0,23
1. Контроль (5)	17,07±0,21	0,74±0,13	3,14±0,11	0,00±0,00	0,48±0,09	9,04±0,31	0,46±0,03	0,43±0,08	1,60±0,08 А-1 P<0,05	0,90±0,03 А-1 P<0,05	0,28±0,07
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	14,08±0,60 1-2 P<0,01	0,98±0,06	1,72±0,39 1-2 P<0,05	0,01±0,01	0,21±0,03 1-2 P<0,05	7,58±0,16	0,49±0,04	0,42±0,04	1,66±0,06	0,66±0,07 1-2 P<0,05	0,35±0,14
3.Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 3 (5)	17,64±0,55	1,04±0,02	1,32±0,30	0,00±0,00	0,32±0,07	8,88±0,27	1,50±0,06 2-3 P<0,01	0,52±0,06	2,54±0,09 2-3 P<0,01	1,13±0,05 2-3 P<0,01	0,39±0,03
4.Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 2 (5)	15,47±2,28 2-4 P<0,05	1,01±0,23	2,62±0,34	0,03±0,02	0,24±0,05	10,80±1,17 2-4 P<0,05	0,71±0,08 2-4 P<0,01 3-4 P<0,01	0,57±0,15	2,38±0,32 2-4 P<0,01	1,29±0,22 2-4 P<0,05	0,40±0,13

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Общее количество кариоцитов	Нейтрофильные гранулоциты		Эозинофилы	Моноциты	Лимфоциты	Эритробласты	Пронормобласты	Нормобласты		
		Незрелые	Зрелые						Базофильные	Полихроматофильные	Оксифильные
5 сут после введения доксорубицина (15 сут эксперимента)											
А. Интактный контроль (5)	20,05± 2,20	1,01± 0,23	2,62± 0,34	0,03± 0,02	0,24± 0,05	10,80± 1,17	0,71±0,08	0,57± 0,15	2,38± 0,32	1,30± 0,22	0,39± 0,04
1. Контроль (5)	18,76± 0,87 А-1 P<0,05	0,81± 0,13	3,81± 0,14	0,00± 0,00	0,54± 0,09	10,20± 0,76	0,42±0,03 А-1 P<0,05	0,40± 0,07	1,46± 0,12 А-1 P<0,05	0,84± 0,07 А-1 P<0,05	0,28± 0,15
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	10,57± 0,59 1-2 P<0,01	0,63± 0,06	1,79± 0,21 1-2 P<0,01	0,01± 0,01	0,13± 0,02 1-2 P<0,01	5,83± 0,43 1-2 P<0,05	0,24±0,02 1-2 P<0,01	0,28± 0,04 1-2 P<0,01	0,86± 0,09 1-2 P<0,01	0,43± 0,05 1-2 P<0,01	0,37± 0,11
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 3 (5)	18,52± 0,55 2-3 P<0,05	1,10± 0,07	1,34± 0,29	0,00± 0,00	0,33± 0,07	9,34± 0,40 2-3 P<0,05	1,59±0,12 2-3 P<0,05	0,56± 0,08 2-3 P<0,05	2,68± 0,16 2-3 P<0,05	1,19± 0,09 2-3 P<0,05	0,39± 0,13
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 4 (5)	21,51± 0,48 2-4 P<0,05	1,50± 0,12 2-4 P<0,05	1,74± 0,40	0,00± 0,00	0,38± 0,09	10,76± 0,36 2-4 P<0,05	1,82±0,10 2-4 P<0,05	0,54± 0,08 2-4 P<0,05	2,99± 0,08 2-4 P<0,05	1,36± 0,09 2-4 P<0,05	0,42± 0,13

171

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Общее количество кариоцитов	Нейтрофильные гранулоциты		Эозинофилы	Моноциты	Лимфоциты	Эритробласты	Пронормобласты	Нормобласты		
		Незрелые	Зрелые						Базофильные	Полихроматофильные	Оксифильные
7 сут после введения доксорубицина (17 сут эксперимента)											
А. Интактный контроль (5)	17,75±2,11	1,23±0,17	4,54±0,58	0,04±0,02	0,28±0,06	10,92±1,33	0,81±0,13	0,50±0,08	2,18±0,32	1,13±0,13	0,66±0,23
1. Контроль (5)	10,58±0,53 А-1 P<0,05	0,68±0,08	2,47±0,23 А-1 P<0,05	0,00±0,00	0,36±0,06	6,72±0,72 А-1 P<0,05	0,34±0,03 А-1 P<0,05	0,26±0,05 А-1 P<0,05	0,97±0,12 А-1 P<0,05	0,56±0,05 А-1 P<0,05	0,26±0,13 А-1 P<0,05
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	11,62±1,10	0,77±0,13	2,19±0,22	0,01±0,01	0,17±0,02	5,96±0,36	0,40±0,04	0,35±0,06	1,39±0,10	0,54±0,08	0,36±0,12
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 3 (5)	22,73±1,20 2-3 P<0,01	1,36±0,10 2-3 P<0,01	1,63±0,34	0,00±0,00	0,41±0,09	11,37±0,78 2-3 P<0,01	1,98±0,18 2-3 P<0,01	0,72±0,14 2-3 P<0,05	3,37±0,19 2-3 P<0,01	1,50±0,13 2-3 P<0,01	0,39±0,13
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 6 (5)	22,24±0,56 2-4 P<0,01	1,57±0,14 2-4 P<0,05	1,80±0,41	0,00±0,00	0,40±0,10	10,92±0,11 2-4 P<0,05	1,89±0,40 2-4 P<0,05	0,59±0,06 2-4 P<0,05	3,14±0,15 2-4 P<0,05	1,45±0,12 2-4 P<0,05	0,48±0,17

Анализ миелограмм показал, что развитие гипоплазии кроветворной ткани было обусловлено глубоким подавлением всех ростков гемопоэза. На 3 и 5 сут после введения доксорубицина отмечено достоверное снижение количества зрелых нейтрофильных гранулоцитов. В эти же сроки эксперимента наблюдалось снижение количества моноцитов, по сравнению с таковым у здоровых животных. Кроме того, на 5 сут регистрировалась лимфоцитопения. Использование цитостатика также привело к развитию депрессии эритроидного ростка кроветворения: на 3 сут после инъекции препарата число полихроматофильных нормобластов уменьшилось в 1,4 раза ($P<0,05$). На 5 сут отмечено достоверное снижение количества эритробластов в 1,8 раза, пронормобластов – в 1,4 раза, а также базофильных и полихроматофильных нормобластов в 1,7 и 2,0 раза соответственно (см. таблицу 44).

Добавление в схему химиотерапии рекормона привело к восстановлению костномозгового кроветворения, угнетенного цитостатиком. Так, на 3, 5 и 7 сут после введения доксорубицина наблюдалось увеличение общей клеточности костного мозга по сравнению с таковым показателем у животных в группе монохимиотерапии (см. таблицу 44).

На все сроки эксперимента регистрировалось восстановление эритроидного ростка кроветворения у животных, получавших референс-препарат. Отмечено повышение количества эритробластов, базофильных и полихроматофильных нормобластов относительно этих показателей у мышей, получавших только цитостатик. На 5 и 7 сут после инъекции доксорубицина наблюдался рост числа пронормобластов в 2,0 и 2,1 раза ($P<0,05$) соответственно. Помимо стимуляции эритропоэза, использование рекормона привело к восстановлению гранулоцитарного и лимфоидного ростков кроветворения. Так, на 5 и 7 сут отмечено увеличение лимфоидных клеток в 1,6 и 1,9 раза ($P<0,05$) соответственно в костном мозге животных, получавших референс-препарат а фоне доксорубицина. Рост числа незрелых нейтрофильных гранулоцитов наблюдался на 7 сут после введения цитостатика (см. таблицу 44).

При использовании АСК А-95 на фоне введения доксорубицина наблюдалась ускоренная регенерация костномозгового кроветворения. На все сроки эксперимента отмечалось повышение ОКК по сравнению с этим показателем в получавшей цитостатик группе (см. таблицу 44).

Исследование миелограмм показало, что растительный комплекс стимулирует процессы восстановления эритроидного, гранулоцитарного и лимфоидного ростков гемопоэза. Так, содержание эритробластов, базофильных и полихроматофильных нормобластов в костном мозге мышей, получавших растительный комплекс, на 3–7 сут превосходило значения в группе получавших доксорубицин животных, достигая максимальной разницы на 5 сут эксперимента. На 5 и 7 сут после использования доксорубицина отмечено увеличение числа пронормобластов в 1,9 и 1,7 раза соответственно ($P<0,05$). При введении АСК А-95 совместно с цитостатиком, на 5 и 7 сут регистрировалось увеличение содержания незрелых форм нейтрофильных гранулоцитов в костном мозге мышей. Также, назначение АСК А-95 приводило к более активному восстановлению клеточности лимфоидного ростка кроветворения после повреждения доксорубицином: на 3, 5 и 7 сут число костномозговых лимфоидных клеток было достоверно выше таковых показателей у животных, получавших цитостатик в 1,4; 1,8 и 1,8 раза соответственно. Сравнительный анализ групп с комбинированной терапией показал, что назначение рекормона на фоне химиотерапии на 3 сут после инъекции цитостатика привело к достоверным различиям в содержании количества эритробластов (в 2,1 раза, $P<0,01$) в костном мозге животных с опухолью по сравнению с таковым у мышей группы, получавшей растительный комплекс (см. таблицу 44).

Клетки-предшественники эритропоэза

При изучении колониеобразующей способности клеток костного мозга показано, что у мышей на фоне развития карциномы легких Льюис на 13, 15, 17 сут эксперимента достоверно увеличилось содержание КлОЕ-Э (в 3,1; 12,2 и 6,7 раза соответственно) и КОЕ-Э (в 5,6; 23,0; 12,5 раза соответственно).

Интенсивность созревания эритроидных клеток-предшественников у мышей с опухолью во все сроки наблюдения оказалась ниже относительно этого показателя у здоровых животных (таблица 45).

Таблица 45 – Динамика содержания кроветворных клеток-предшественников эритропоэза (КлОЕ-Э, КОЕ-Э) ($\times 10^5$ клеток/бедро) и интенсивности созревания КОЕ-Э (индекс созревания) в костном мозге у мышей-самок линии С57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa (*Michx.) Elliott. (АСК А-95) и рекормона на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество лунок)	КлОЕ-Э	КОЕ-Э	Индекс созревания
3 сут после введения доксорубицина (13 сут эксперимента)			
А. Интактный контроль (5)	26,25±1,75	5,00±0,41	5,25±0,82
1. Контроль (5)	80,50±11,00 А-1 P<0,01	27,75±3,59 А-1 P<0,01	2,90±0,50 А-2 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	41,75±5,02 1-2 P<0,01	12,75±1,11 1-2 P<0,01	3,27±1,11
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 3 (5)	10,50±3,62	13,25±0,63	0,80±0,21 2-3 P<0,05
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 2 (5)	62,00±4,81 2-4 P<0,01 3-4 P<0,05	10,75±0,85 3-4 P<0,05	5,77±0,11 2-4 P<0,01 3-4 P<0,01
5 сут после введения доксорубицина (15 сут эксперимента)			
А. Интактный контроль (5)	3,50±0,87	0,50±0,29	7,00±1,21
1. Контроль (5)	42,75±3,28 А-1 P<0,01	11,50±0,65 А-1 P<0,05	3,72±2,11 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	20,50±3,71 1-2 P<0,01	4,25±0,63 1-2 P<0,05	4,83±1,95
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 5 (5)	35,75±5,82 2-3 P<0,01	11,25±1,38 2-3 P<0,05	3,18±0,72
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 4 (5)	83,00±2,94 2-4 P<0,01 3-4 P<0,01	11,00±0,71 2-4 P<0,05	7,54±1,23 2-4 P<0,01 3-4 P<0,01

Группа наблюдений, доза × число введений (количество лунок)	КлОЕ-Э	КОЕ-Э	Индекс созревания
7 сут после введения доксорубицина (17 сут эксперимента)			
А. Интактный контроль (5)	12,50±0,65	1,50±0,65	8,33±1,23
1. Контроль (5)	84,25±6,45 А-1 P<0,01	18,75±1,38 А-1 P<0,01	4,50±1,14 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	34,25±3,64 1-2 P<0,05	9,00±2,16 1-2 P<0,05	3,81±0,25 1-2 P<0,05
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 5 (5)	33,50±2,40	16,00±0,41 2-3 P<0,05	2,10±0,36
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 6 (5)	18,25±2,98 2-4 P<0,01 3-4 P<0,05	15,50±0,65 2-4 P<0,01	1,18±0,14 2-4 P<0,01

Назначение доксорубицина животным с опухолью приводило к выраженным изменениям колоние- и кластерообразующей способности костного мозга. Так, при изучении количества клеток-предшественников эритропоэза в костном мозге мышей с карциномой легких Льюис, получавших доксорубицин, выявлено достоверное снижение уровня КлОЕ-Э и КОЕ-Э на 3, 5 и 7 сут после инъекции цитостатика. Отмечено, что индекс созревания на фоне введения антибластомного препарата был снижен на 17 сут эксперимента (см. таблицу 45).

Анализ колониеобразующей способности костного мозга мышей с LLC после применения рекормона на фоне однократного цитостатического воздействия показал следующие изменения. Возрастание выхода КОЕ-Э наблюдалось на 5 и 7 сут после инъекции химиотерапевтического агента: их количество увеличилось в 2,6 и 1,7 раза соответственно относительно этого показателя у мышей, получавших один доксорубицин. Кроме того, на 5 сут после инъекции цитостатика отмечено стимулирующее действие АСК А-95 отношении КлОЕ-Э. Так, количество КлОЕ-Э в этот срок исследования выросло в 1,8 раза относительно данного показателя у животных, получавших только цитостатик, при этом комбинированное использование референс-препарата с доксорубицином не изменило интенсивность дифференцировки (см. таблицу 45).

При введении антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* на фоне доксорубицина наблюдалось достоверное увеличение выхода КОЕ-Э в 2,6 и 1,7 раза на 5 и 7 сут соответственно после введения цитостатика. Кроме того, стимулирующее действие растительного комплекса в отношении КлОЕ-Э в костном мозге мышей с опухолью отмечено на 3 и 5 сут после инъекции цитостатика. Так, в эти сроки эксперимента количество КлОЕ-Э оказалось достоверно выше в 1,5 и 4,0 раза ($P<0,01$) соответственно. На 7 сут наблюдалось достоверное снижение этого показателя в 1,9 раза относительно его величины у получавших только доксорубицин мышей. Отмечено усиление интенсивности созревания КОЕ-Э на 3 и 5 сут после инъекции цитостатика (см. таблицу 45).

Уровень эритропоэтической активности в кондиционных средах костного мозга

При изучении ЭПА кондиционных сред отмечено, что на 3 и 5 сут после инъекции цитостатика совместно с АСК А-96 усиливается продукция эритропоэтической активности неадгезирующими клетками костного мозга 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 опухолью, которым вводили референс-препарат. На 7 сут отмечена стимуляция продукции эритропоэтической активности адгезирующими клетками костного мозга у мышей с карциномой лёгких Льюис, получавших растительный комплекс из *A. melanocarpa* совместно с доксорубицином (таблица 46).

Таблица 46 – Изменение уровня эритропоэтической активности кондиционной среды клеток костного мозга мышей-самок линии C57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (АСК А-95) и рекормона на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество лунок)	Адгезируюшие клетки	Неадгезирующие клетки
3 сут после введения доксорубицина (13 сут эксперимента)		
А. Интактный контроль (5)	1,20±0,49	0,40±0,24
1. Контроль (5)	2,80±0,86 А-1 P<0,01	0,40±0,24
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	2,00±0,70	2,50±0,96 1-2 P<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 3 (5)	2,50±0,65	1,00±0,71 2-3 P<0,05
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 2 (5)	1,60±0,40	14,20±0,86 2-4 P<0,01 3-4 P<0,01
5 сут после введения доксорубицина (15 сут эксперимента)		
А. Интактный контроль (5)	0,00±0,00	11,60±1,47
1. Контроль (5)	3,20±0,37 А-1 P<0,01	18,80±1,24 А-1 P<0,05
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	2,40±0,68 1-2 P<0,05	4,20±1,02 1-2 P<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 5 (5)	1,00±0,77	7,00±2,30 2-3 P<0,01
4. Доксорубицин, 6 мг/кг х 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 4 (5)	1,00±0,32	7,80±0,97 2-4 P<0,01
7 сут после введения доксорубицина (17 сут эксперимента)		
А. Интактный контроль (5)	1,45±0,20	1,64±0,41
1. Контроль (5)	0,32±0,15 А-1 P<0,01	0,15±0,10 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	0,36±0,09	0,92±0,16 1-2 P<0,05
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 5 (5)	0,92±0,60	0,70±0,16
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 6 (5)	1,20±0,37 2-4 P<0,01	0,80±0,49

Уровень эритропоэтической активности в сыворотке периферической крови

Оценка эритропоэтической активности сыворотки периферической крови показала, что на все сроки эксперимента комбинированное использование антоциансодержащего комплекса с доксорубицином приводит к усилению синтеза ЭПА. Так, данный показатель на 3, 5 и 7 сут после использования цитостатика оказался выше в 6,0; 6,6 и 8,2 раза (P<0,01) соответственно (таблица 47).

Таблица 47 – Изменение уровня эритропоэтической активности в сыворотке периферической крови мышей-самок линии C57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (АСК А-95) и рекормона на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество лунок)	ЭПА
3 сут после введения доксорубицина (13 сут эксперимента	
А. Интактный контроль (5)	0,88±0,68
1. Контроль (5)	0,50±0,30
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	0,41±0,10 1-2 P<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 3 (5)	3,50±0,42 2-3 P<0,01
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 2 (5)	2,45±0,51 2-4 P<0,01
5 сут после введения доксорубицина (15 сут эксперимента)	
А. Интактный контроль (5)	1,00±0,41
1. Контроль (5)	0,88±0,30
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	0,61±0,36 1-2 P<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 5 (5)	3,00±0,72 2-3 P<0,01
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 4 (5)	4,00±0,56 2-4 P<0,01

Группа наблюдений, доза × число введений (количество лунок)	ЭПА
7 сут после введения доксорубицина (17 сут эксперимента)	
А. Интактный контроль (5)	0,80±0,21
1. Контроль (5)	0,71±0,15
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	0,50±0,20 1-2 P<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 5 (5)	2,50±0,10 2-3 P<0,01
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 6 (5)	4,12±0,19 2-4 P<0,01 3-5 P<0,01

Определение эритропоэтина в адгезивной кондиционной среде костного мозг

Оценка содержания ЭПО в прилипающей фракции костного мозга показала, что на фоне развития LLC наблюдалось увеличение значения данного показателя на 13 сут относительно исходного значения с последующим его падением на 15–17 сут эксперимента (таблица 48).

Таблица 48 – Изменение уровня содержания эритропоэтина в адгезивной кондиционной среде костного мозга (мМЕ/мл) мышей-самок линии C57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (АСК А-95) и рекормона на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество лунок)	ЭПО
3 сут после введения доксорубицина (13 сут эксперимента)	
А. Интактный контроль (4)	0,17±0,02
1. Контроль (4)	0,92±0,19 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (4)	0,03±0,01 1-2 P<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь х 3 (4)	0,05±0,02
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 2 (4)	0,03±0,01
5 сут после введения доксорубицина (15 сут эксперимента)	
А. Интактный контроль (4)	0,18±0,06
1. Контроль (4)	0,04±0,01 А-1 P<0,01

Группа наблюдений, доза × число введений (количество лунок)	ЭПО
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (4)	0,04±0,02
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 5 (4)	0,05±0,02
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 4 (4)	0,03±0,01
7 сут после введения доксорубицина (17 сут эксперимента)	
А. Интактный контроль (4)	0,19±0,05
1. Контроль (4)	0,10±0,02 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (4)	0,05±0,02
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 5 (4)	0,04±0,01
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 6 (4)	0,35±0,05 2-4 P<0,01

На 3 сут после назначения доксорубицина наблюдалось снижение синтеза изучаемого цитокина элементами адгезирующей фракции ГИМ относительного такового показателя в контрольной группе. На 13–17 сут эксперимента включение в химиотерапию рекормона не изменило уровень концентрации ЭПО относительно значений в группе монохимиотерапии (см. таблицу 48).

При определении концентрации эритропоэтина в адгезивной кондиционной среде костного мозга у мышей с карциномой лёгких Льюис показано, что включение в схему химиотерапии антоциансодержащего комплекса из *A. melanocarpa* привело к увеличению данного показатели в 7,0 раза (P<0,01) на 7 сут после введения доксорубицина относительно группы монохимиотерапии (см. таблицу 48).

Определение эритропоэтина в сыворотке периферической крови

При изучении концентрации эритропоэтина в сыворотке крови животных с опухолью отмечено, что на 7 сут развития карциномы лёгких Льюис наблюдалось достоверное снижение данного показателя в 1,2 раза относительно исходных значений (таблица 49).

Назначение антибластомного препарата в дозе 6 мг/кг привело к снижению содержания изучаемого цитокина в сыворотке крови. Напротив, комбинированное назначение рекормона с доксорубицином привело к росту концентрации эритропоэтина в 2,1 раза (P<0,01) (см. таблицу 49).

Таблица 49 – Изменение концентрации эритропоэтина в сыворотке периферической крови (мМЕ/мл) мышей-самок линии С57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис под влиянием антоциансодержащего комплекса из *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (АСК А-95) и рекормона на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество лунок)	ЭПО
7 сут после введения доксорубицина (17 сут эксперимента)	
А. Интактный контроль (4)	63,87±0,91
1. Контроль (4)	52,99±0,78 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (4)	21,34±0,25 1-2 P<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + рекормон, 10 ЕД/мышь × 3 (4)	43,80±1,05 2-3 P<0,01
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 2 (4)	25,94±0,22 2-4 P<0,05 3-4 P<0,01

Определение методом иммуноферментного анализа концентрации эритропоэтина в сыворотке крови мышей показало, что курсовое использование АСК А-95 совместно с антибластомным препаратом привело к увеличению данного показателя. Так, концентрация ЭПО на 7 сут после введения доксорубицина повысилась в 1,2 раза (P<0,05) относительно показателя у мышей в группе монохимиотерапии (см. таблицу 49).

Таким образом, проведенные эксперименты показали наличие у антоциансодержащих комплексов из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* способности преимущественно стимулировать процессы регенерации костномозгового эритропоэза, подавленного доксорубицином, что выражалось в увеличении содержания эритробластов, базофильных и полихроматофильных нормобластов в костном мозге, эритроцитов и ретикулоцитов в периферической крови экспериментальных животных с опухолью в период постцитостатического восстановления. Механизм действия растительных комплексов связан с их стимулирующим влиянием на синтез гуморальных факторов специализированными клетками.

3.5.2 Влияние антоциансодержащих растительных комплексов *in vitro* на эритроидное колониеобразование

При изучении способности стимулировать колониеобразование клетками интактного костного мозга *in vitro* выявлено, что культивирование неадгезирующей фракции костного мозга в среде, содержащей антоциансодержащие комплексы из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* в различных концентрациях (30, 150 и 300 мкг/мл) привело к увеличению числа эритроидных колониеобразующих единиц по сравнению с интактным контролем. Отмечено, что добавление в культуру клеток АСК А-95 приводит к дозозависимому стимулирующему эффекту. Кроме того, внесение в культуральную среду АСК S-95 в концентрации 300 мкг/мл, а также АСК А-95 в концентрациях 150 и 300 мкг/мл привело к увеличению образование КлОЕ-Э в 1,2; 1,4 и 1,9 раза соответственно относительно такого показателя в интактном контроле (таблица 50).

Таблица 50 – 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) ($\times 10^5$ 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

При изучении эритропоэтической активности кондиционных сред показано, что растительные комплексы из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa in vitro* в различных концентрациях усиливают продукцию ЭПА прилипающими клетками костного мозга. Так, при культивировании клеток костного мозга с АСК А-95 в концентрациях 30, 150 и 300 мкг/мл наблюдалось усиление выработки ЭПА адгезирующими клетками (в 1,6; 1,8 и 1,9 раза, соответственно) относительно этого показателя у интактного контроля. Аналогичные результаты, с менее выраженным эффектом, получены при изучении влияния АСК S-95 *in vitro* на ЭПА прилипающих кариоцитов (таблица 51).

Таблица 51 – Влияние антоциансодержащих комплексов из *Sorbus aucuparia* L. (АСК S-95), *Aronia melanocarp*a (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

При оценке продукции ЭПА неадгезирующими элементами костного мозга установлено, что их культивирование с антоциансодержащими комплексами из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* в концентрациях 150 и 300 мкг/мл приводит к увеличению этого показателя относительно такового в интактном контроле (см. таблицу 51).

Таким образом, результаты проведенных исследований *in vitro* свидетельствуют о том, что растительные комплексы из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* обладают способностью к прямой стимуляции функционирования коммитированных предшественников эритропоэза. Повышение эффективности эритроидного колониеобразования под действием изучаемых препаратов опосредовано также активацией прилипающих и неприлипающих элементов микроокружения.

3.5.3 Молекулярный докинг

Цианидин – это природное органическое соединение, относящееся к группе антоцианидинов. В результате проведенного молекулярного докинга выполнен анализ взаимодействия между исследуемым соединением – молекулой цианидина и белками мишенями (TLR4, CCR2, IL-4Rα, PPAR-γ, EpoR, IFN-γR). Выявлены боковые цепи, отвечающие за связь с ключевыми аминокислотными остатками рецепторов. Модели белок-лиганд, созданные с помощью RosettaLigand, оцениваются с помощью наименьшей энергии связывания, представляющей собой оценочную функцию (комбинация отдельных независимых слагаемых, отражающих различные физические взаимодействия), включая электростатические взаимодействия, водородные связи, ван-дер-ваальсовые параметры и др. Полученные комплексы были ранжированы по баллам InterfaceDelta, которые представляет собой разницу между энергиями белка в связанном с лигандом и несвязанном состояниях. Поза с наименьшим показателем была определена, как лучшая стыковочная поза. С целью сравнения полученного комплекса с наименьшей энергией было рассчитано среднеквадратичное отклонение (RMSD) между положениями атомов лиганда в расчетной и экспериментальной структурах. На рисунке 3 приведен график значений показателя RMSD между комплексом высшего ранга по результатам докинга и положением связывания нативного лиганда

во всех 6 кристаллических структурах. В большинстве полученных комплексов показатель RMSD не превышал 2 Å, что указывает на высокое сходство с известной нативной структурой рецептора. В ходе проведенного молекулярного докинга не удалось получить форму связывания лиганда, схожую с известной кристаллической структурой, лишь для рецептора EpoR, со значением RMSD, составившим 8,707.

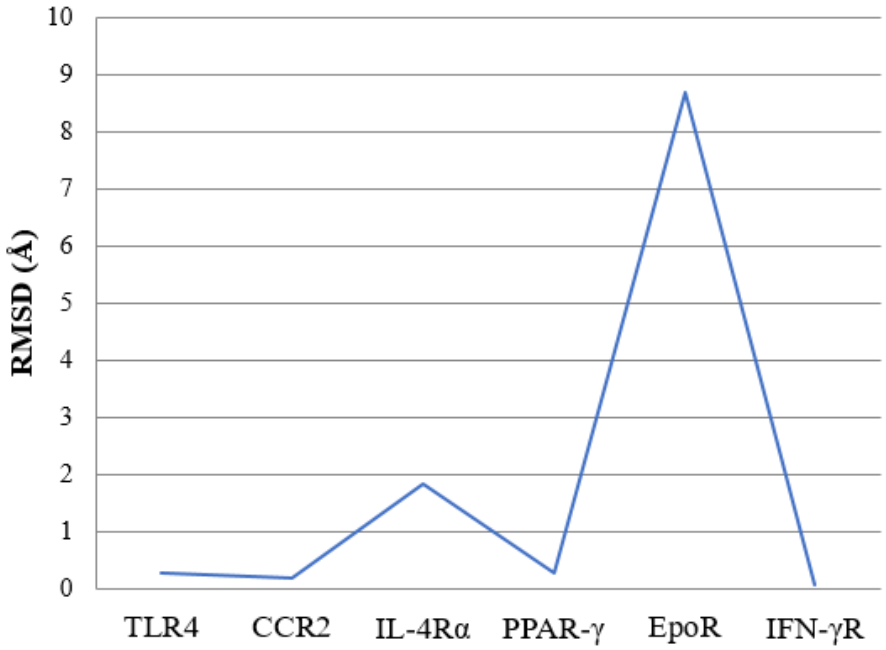

Рисунок 3 – Значения RMSD комплексов,
сгенерированных Rosetta Ligand Docking

Дальнейшую оценку результатов докинга проводили с помощью показателя стыковки, полученного для каждого рецептора. Распределение показателя InterfaceDelta, полученного для каждого комплекса лиганд-рецептор показано на рисунке 4, который также отражает надежность стыковки.

В результате проведенного молекулярного докинга рецепторы CCR2 и EpoR демонстрировали надежную энергию связывания с исследуемой молекулой цианидина (от –10 до –15). Рецепторы IL-4Rα, PPAR-γ, IFN -γ показали умеренное связывание с молекулой лиганда, энергия связывания составила –7,919; –7,296 и –6,326 соответственно. Для комплекса лиганда и рецептора

TLR4 показатель составил –16,21, что указывает на высокую аффинность, и является наилучшим результатом среди всех исследуемых белков рецепторов (рисунок 5).

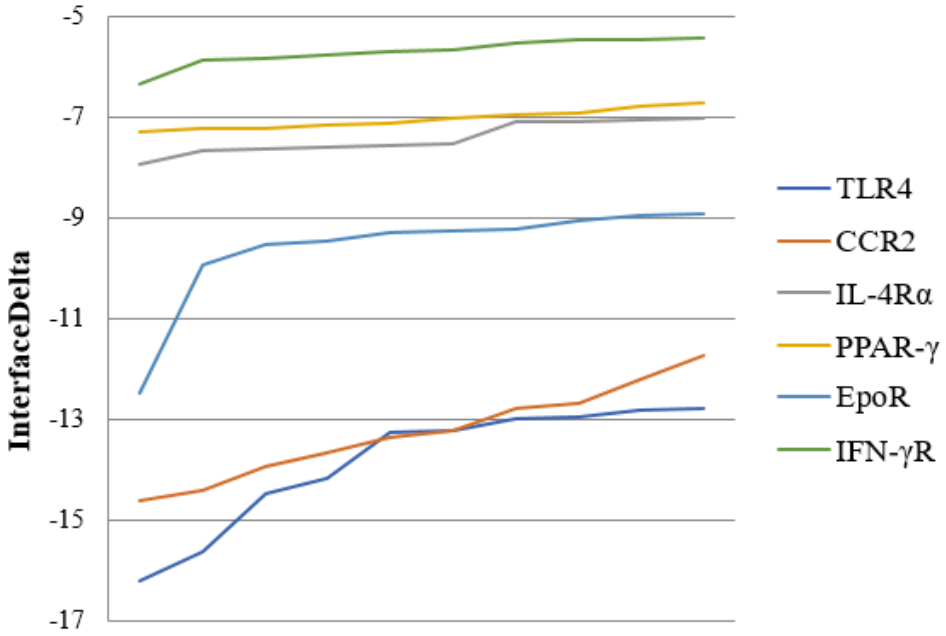

Рисунок 4 – Распределение значений InterfaceDelta, для десяти стыковочных поз, с наименьшими энергиями связывания

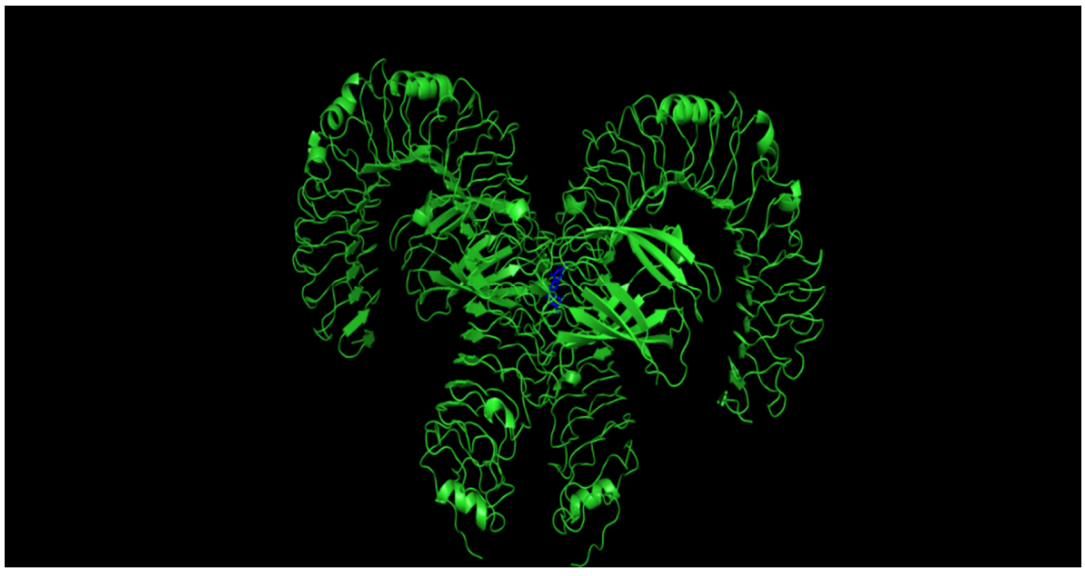

Рисунок 5 – Молекула цианидина, расположенная в сайте связывания TLR4

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) (писунок 6).

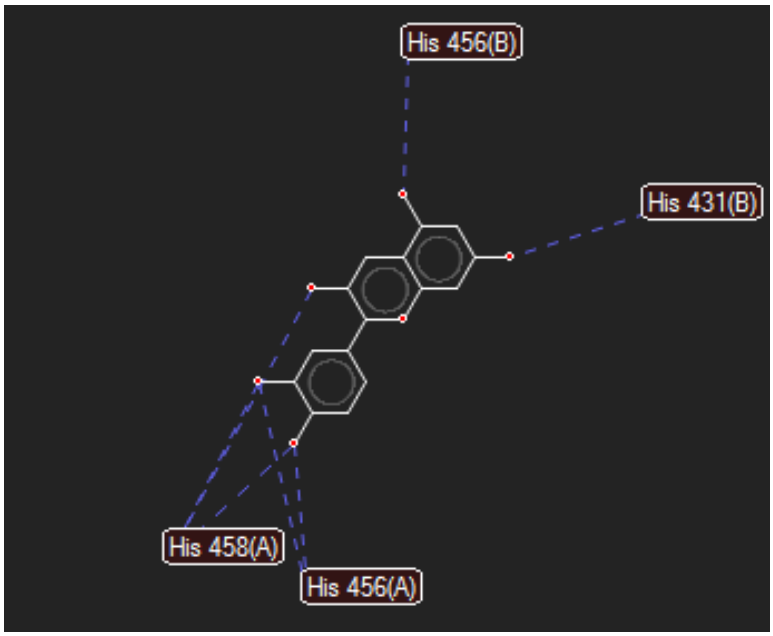

Рисунок 6 – 2D-карта, отражающая взаимодействие молекулы цианидина с аминокислотными остатками в сайте связывания TLR4

Таким образом, показано, что молекула цианидина может взаимодействовать с белком TLR4. Экспериментальные данные подтверждают специфичность взаимодействия комплекса белок-лиганд.

3.5.4 Коррекция генотоксических свойств доксорубицина с помощью антоциансодержащих растительных комплексов

3.5.4.1 Применение антоциансодержащих растительных комплексов для коррекции генотоксических свойств доксорубицина в клетках костного мозга у мышей без опухоли

Учет хромосомных аберраций в клетках костного мозга

Через 24 ч после введения доксорубицина в дозе 6 мг/кг в клетках костного мозга выявлено увеличение количества аберрантных хромосом в 6,5 раз ($P<0,01$) по сравнению с соответствующим показателем у интактных животных. Среди нарушений в результате цитостатического воздействия были выявлены одиночные фрагменты и пробелы: их количество возросло в 30,0 и 3,9 раза ($P<0,01$) соответственно. Доля клеток с аберрациями хромосом через 24 ч после использования антрациклинового антибиотика оказалась в 5,9 раза выше значения в интактной группе (таблица 52, рисунок 7,г).

Через 48 ч после инъекции цитостатика структурные нарушения в клетках сохранялись. Отмечены одиночные фрагменты, а также клетки с пробелами хромосом. Количество аберрантных хромосом в клетках костного мозга животных, получавших доксорубицин, и количество клеток с аберрациями достоверно отличались (в 7,6 раза, $P<0,01$) от соответствующих показателей у здоровых животных (см. таблицу 52).

На 10 сут после введения доксорубицина генотоксический эффект цитостатика сохранялся. Так, при анализе метафазных пластинок были выявлены аберрантные хромосомы, а также клетки с пробелами хромосом. Доля поврежденных клеток оказалась выше аналогичного значения в интактной группе в 3,8 раза (см. таблицу 52).

Таблица 52 – Цитогенетические показатели клеток костного мозга мышей-самок линии C57Bl/6, получавших антоциансодержащие комплексы из *Sorbus aucuparia* L. *(*АСК S-95*)* и *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (АСК А-95) на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Одиночные фрагменты	Хроматидные и хромосомные обмены	Пробелов хромосом (гепов)	Клетки с множественными аберрациями	Количество аберрантных хромосом	Клетки с хромосомными повреждениями, %
	на 100 исследованных метафаз					
24 ч после введения доксорубицина						
А. Интактный контроль (5)	0,20±0,20	0,00±0,00	1,80±0,66	0,00±0,00	2,00±0,63	2,00±0,63
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	6,00±1,26 А-1 P<0,01	0,00±0,00	7,00±1,10 А-1 P<0,01	0,00±0,00	13,00±1,41 А-1 P<0,01	11,80±1,02 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 1 (5)	3,40±0,98 1-2 P<0,05	0,00±0,00	1,40±0,40 1-2 P<0,01	0,00±0,00	4,80±1,11 1-2 P<0,01	4,60±1,03 1-2 P<0,01
3. АСК S-95, 5 мл/кг × 1 (5)	1,80±0,66	0,00±0,00	1,80±0,49	0,00±0,00	3,60±0,75	3,00±0,45
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 1 (5)	6,60±0,68 2-4 P<0,05	0,20±0,20	1,60±0,51 1-4 P<0,01	0,00±0,00	8,60±0,98 1-4 P<0,01 2-4 P<0,05	7,60±0,40 1-4 P<0,01 2-4 P<0,05
5. АСК А-95, 5 мл/кг × 1 (5)	0,60±0,40	0,00±0,00	0,80±0,58	0,00±0,00	1,40±0,93	1,40±0,93

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Одиночные фрагменты	Хроматидные и хромосомные обмены	Пробелов хромосом (гепов)	Клетки с множественными аберрациями	Количество аберрантных хромосом	Клетки с хромосомными повреждениями, %
	на 100 исследованных метафаз					
48 ч после введения доксорубицина						
А. Интактный контроль (5)	0,80±0,49	0,00±0,00	0,80±0,49	0,00±0,00	1,60±0,75	1,60±0,75
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	4,20±1,50 А-1 P<0,01	0,00±0,00	8,00±0,89 -1),01	0,00±0,00	12,20±1,28 А-1 P<0,01	12,20±1,28 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 2 (5)	4,40±0,98	0,00±0,00	2,60±1,08 1-2 P<0,01	0,00±0,00	7,00±1,67 1-2 P<0,05	7,00±1,67 1-2 P<0,05
3. АСК S-95, 5 мл/кг × 2 (5)	0,80±0,49	0,00±0,00	2,00±0,89	0,00±0,00	2,80±1,20	2,80±1,20
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 2 (5)	3,80±1,02	0,00±0,00	1,00±0,32 1-4 P<0,01	0,00±0,00	4,80±0,80 1-4 P<0,01	4,60±0,68 1-4 P<0,01
5. АСК А*95, 5 мл/кг × 2 (5)	3,20±1,36	0,00±0,00	0,80±0,49	0,00±0,00	4,00±1,67	3,60±1,33
10 сут после введения доксорубицина						
А. Интактный контроль (5)	0,00±0,00	0,00±0,00	1,60±0,75	0,00±0,00	1,60±0,75	1,60±0,75
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	1,60±0,75	0,00±0,00	4,40±1,17 А-1 P<0,05	0,00±0,00	6,00±0,89 А-1 P<0,01	6,00±0,89 А-1 P<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S*95, 5 мл/кг × 10 (5)	0,40±0,40 1-2 P<0,05	0,00±0,00	1,60±0,40 1-2 P<0,05	0,00±0,00	2,00±0,63 1-2 P<0,05	2,00±0,63 1-2 P<0,01
3. АСК S-95, 5 мл/кг × 10 (5)	1,20±0,49	0,00±0,00	0,80±0,49	0,00±0,00	2,00±0,63	2,00±0,63
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 10 (5)	2,00±0,63 2-4 P<0,05	0,00±0,00	2,40±0,75 1-4 P<0,05 2-4 P<0,05	0,00±0,00	4,40±1,17 2-4 P<0,05	4,40±1,17 1-4 P<0,05 2-4 P<0,05
5. АСК А-95, 5 мл/кг × 10 (5)	0,80±0,49	0,00±0,00	1,60±0,40	0,00±0,00	2,40±0,75	2,40±0,75

При изолированном использовании антоциансодержащих комплексов из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* не было выявлено хромосомных аберраций в клетках косного мозга на протяжении всего эксперимента (см. таблицу 52, рисунок 7,б,в).

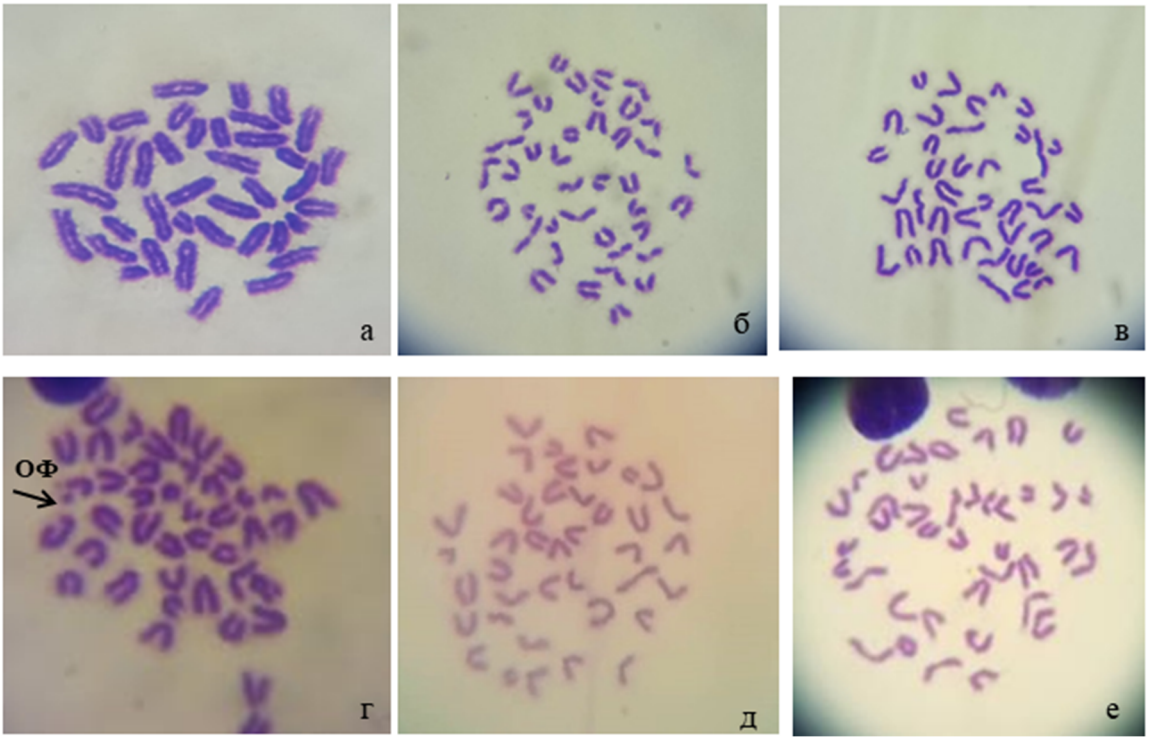

Рисунок 7 – Фотографии метафазных пластинок костного мозга мышей-самок линии C57Bl/6 через 24 ч после однократного введения доксорубицина и антоциансодержащих комплексов из плодов *Sorbus aucuparia* L. (АСК S-95) и *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (АСК А-95).

Примечание: а – интактный контроль; б – АСК S-95; в – АСК А-95; г – доксорубицин; д – доксорубицин+АСК S-95; е – доксорубицин+АСК А-95. Стрелкой указаны структурные нарушения хромосом (ОФ – одиночный фрагмент). Окраска азур-эозином, иммерсионный объектив ×100

При добавлении в схему химиотерапии растительных комплексов наблюдалось ослабление генотоксического действия доксорубицина. Так, через 24 ч после использования цитостатика в группе мышей, получавших АСК из *S. aucuparia* отмечалось снижение количества аберрантных хромосом в 2,7 раза по сравнению с показателем в группе монохимиотерапии. Наблюдалось достоверное падение количества клеток с одиночными фрагментами и

пробелами хромосом в 1,8 и 5,0 раза (P<0,01) соответственно по сравнению с показателями в группе животных, которым вводили только доксорубицин, при этом доля поврежденных клеток уменьшилась в 2,6 раза (P<0,01) (см. таблицу 52, рисунок 7,д).

Через 48 ч наблюдения оказалось, что включение в схему химиотерапии растительного комплекса из *S. aucuparia* привело к достоверному уменьшению числа хромосом с нарушениями (в 1,7 раза, P<0,01) по сравнению с показателем в группе мышей монохимиотерапии. Также отмечено достоверное снижение количества пробелов хромосом в 3,1 раза. Доля поврежденных клеток составила 7,00±1,67% против 12,20±1,28% в группе животных, получавших только доксорубицин (P<0,01) (см. таблицу 52).

На 10 сут эксперимента, на фоне сохраняющегося генотоксического действия цитостатика, при использовании АСК S-95 наблюдалось снижение мутагенного эффекта антибластомного препарата. Так, достоверно уменьшилось количество аберрантных хромосом (в 3,0 раза), одиночных фрагментов (в 4,0 раза), количество пробелов хромосом (в 2,8 раза). Доля поврежденных клеток оказалась ниже в 3,0 раза значения в группе животных, получавших только доксорубицин (см. таблицу 52).

Аналогичные эффекты наблюдались при включении в схему химиотерапии антоциансодержащего комплекса из *A. melanocarpa.* Через 24 и 48 ч после введения доксорубицина назначение АСК А-95 привело к снижению генотоксичности цитостатического препарата за счет уменьшения количества аберрантных хромосом и клеток с пробелами хромосом (рисунок 7,е). Количество клеток с аберрациями хромосом упало в 1,6 раза (через 24 ч) и 2,7 раза (через 48 ч). На 10 сут эксперимента отмечено снижение количества пробелов хромосом в 1,8 раза (P<0,05), доли поврежденных клеток – в 1,4 раза (P<0,05) (см. таблицу 52).

Сравнительный анализ антоциансодержащих комплексов из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* показал, что наиболее выраженным генопротекторным действием обладает АСК S-95. Так, через 24 ч и 10 сут после исполь-

зования доксорубицина количество ДНК-повреждений было ниже в группе комбинированного лечения, включающего АСК S-95 по сравнению с таковыми показателями у мышей, получавших на фоне химиотерапии АСК А-95 (см. таблицу 52).

ДНК – кометы в клетках костного мозга

Через 24 ч после введения доксорубицина в дозе 6 мг/кг в клетках костного мозга было зарегистрировано увеличение процента ДНК в 4,9 раза ($P<0,01$) по сравнению с соответствующим показателем у интактных животных. Добавление в схему химиотерапии антоциансодержащих комплексов оказало генопротекторное действие. Так, использование АСК S-95 привело к снижению количества ДНК-повреждений в 3,1 раза ($P<0,01$), а АСК А-95 – в 3,8 раза ($P<0,01$) (таблица 53, рисунок 8,б).

Через 48 ч после инъекции цитостатика в клетках костного мозга с помощью метода ДНК-комет выявлено, что нарушения ДНК в клетках сохранялись. Отмечено достоверное увеличение процента ДНК в хвосте кометы в 6,3 раза относительно показателя в группе здоровых животных. Комбинированное использование растительного комплекса из *S. aucuparia* совместно с доксорубицином привело к снижению ДНК-повреждений в 3,4 раза ($P<0,01$). При введении антоциансодержащего комплекса из *A. melanocarpa* на фоне доксорубицина наблюдалось достоверное снижение процента ДНК в хвосте комет в 3,0 раза относительно показателя в группе монохимиотерапии (см. таблицу 53, рисунок 8,в,г).

На 10 сут после использования цитостатика сохранялось его токсическое действие на ДНК клеток костного мозга животных. Так, процент ДНК в хвосте кометы в группе животных, получавших только доксорубицин, увеличился в 3,0 раза относительно показателя в интактном контроле. Включение в схему противоопухолевой терапии антоциансодержащих комплексов привело к снижению генотоксического действия антибластомного препарата (см. таблицу 53).

Резюмируя полученные данные, можно заключить, что исследуемые растительные комплексы из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* обладают генопротекторным действием. Наибольшей защитной активностью в отношении ДНК-повреждений, вызванных введением цитостатика, обладает антоциансодержащий комплекс из *S. aucuparia.*

Таблица 53 – Влияние антоциансодержащих комплексов из *Sorbus aucuparia* L. *(*АСК S-95*)* и *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (АСК А-95) на индуцируемую доксорубицином генотоксичность в костном мозге у мышей-самок линии C57Bl/6 (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	% ДНК в хвосте кометы
24 ч после введения доксорубицина	
А. Интактный контроль (5)	0,41±0,04
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	2,00±0,51 А-1Р<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 1 (5)	0,64±0,10 1-2Р<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 1 (5)	0,53±0,12 1-3Р<0,01
48 ч после введения доксорубицина	
А. Интактный контроль (5)	0,31±0,10
1. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	1,94±0,42 А-1Р<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 2 (5)	0,57±0,12 1-2Р<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 2 (5)	0,64±0,15 1-3Р<0,01
10 сут после введения доксорубицина	
А. Интактный контроль (5)	0,61±0,24
1.Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	1,81±0,42 А-1Р<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 10 (5)	0,60±0,08 1-2Р<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 10 (5)	0,92±0,18 1-3Р<0,01

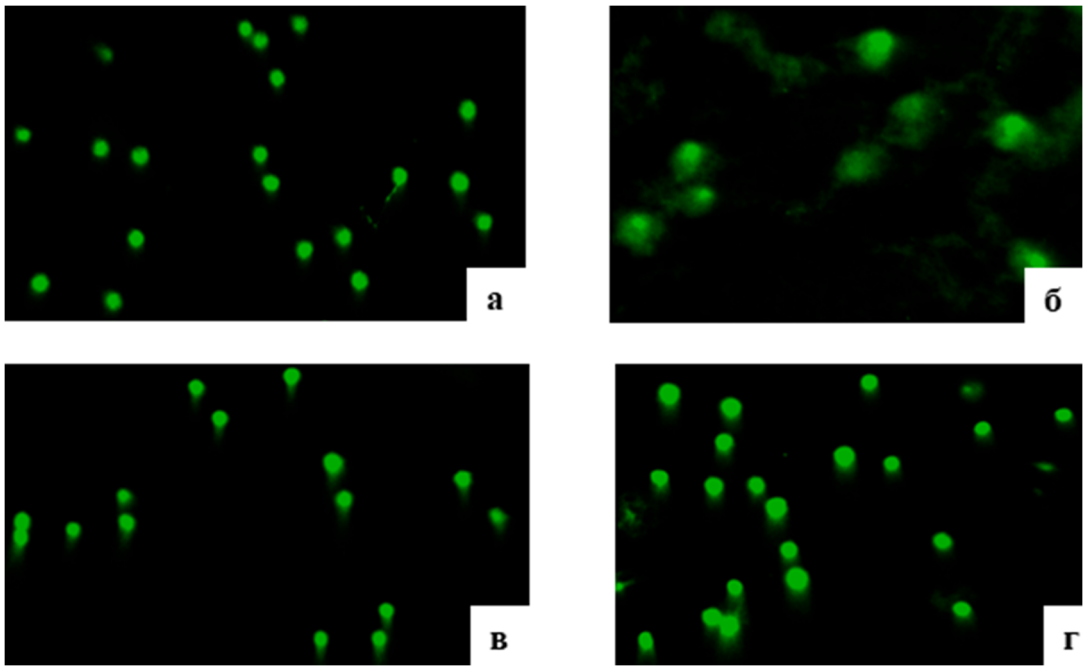

Рисунок 8 – Фотографии ДНК-комет костного мозга мышей-самок линии С57Bl/6 (а) через 24 ч (11 сут эксперимента) после однократного введения доксорубицина (б) и антоциансодержащих комплексов из плодов *Sorbus aucuparia* L. (в) и *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (д). Примечание. Щелочной гель-электрофорез. Окраска SYBR Greem I, увеличение ×200

3.5.4.2 Применение антоциансодержащих растительных комплексов для коррекции генотоксических свойств доксорубицина в клетках костного мозга у мышей с карциномой лёгких Льюис

Учет хромосомных аберраций в клетках костного мозга

Цитогенетическая оценка клеток костного мозга у мышей с карциномой лёгких Льюис показала, что развитие опухоли оказывает токсическое действие на ДНК клеток. На 11 и 21 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 (таблица 54, рисунок 9,б).

Таблица 54 – Цитогенетические показатели клеток костного мозга мышей-самок линии C57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис, получавших антоциансодержащие комплексы из *Sorbus aucuparia* L. *(*АСК S-95*)* и *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (АСК А-95) на фоне однократного введения доксорубицина (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Одиночные фрагменты	Хроматидные и хромосомные обмены	Пробелов хромосом (гепов)	Клетки с множественными аберрациями	Количество аберрантных хромосом	Клетки с хромосомными повреждениями, %
	на 100 исследованных метафаз					
24 ч после введения доксорубицина (11 сут эксперимента)						
А. Интактный контроль (5)	2,00±0,45	0,00±0,00	1,60±0,51	0,00±0,00	3,60±0,51	3,60±0,51
1. Контроль (5)	2,80±0,20	0,00±0,00	2,00±0,63	0,00±0,00	4,80±0,20 А-1Р<0,05	4,80±0,20 А-1Р<0,05
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	5,40±0,93 1-2Р<0,05	0,00±0,00	5,40±1,12 1-2Р<0,05	0,00±0,00	10,80±1,56 1-2Р<0,01	10,40±1,17 1-2Р<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 1 (5)	3,00±2,00 2-3Р<0,05	0,20±0,20	1,33±0,67 2-3Р<0,05	0,00±0,00	4,33±2,40 2-3Р<0,01	4,00±2,08 2-3Р<0,05
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 1 (5)	4,20±0,20	0,00±0,00	1,80±0,37 2-4Р<0,05	0,00±0,00	6,00±0,32 2-4Р<0,05 3-4Р<0,05	5,80±0,37 2-4Р<0,01 3-4Р<0,05

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	Одиночные фрагменты	Хроматидные и хромосомные обмены	Пробелов хромосом (гепов)	Клетки с множественными аберрациями	Количество аберрантных хромосом	Клетки с хромосомными повреждениями, %
	на 100 исследованных метафаз					
10 сут после введения доксорубицина (21 сут эксперимента)						
А. Интактный контроль (5)	1,50±0,30	0,00±0,00	1,40±0,40	0,00±0,00	2,90±0,50	2,90±0,50
1. Контроль (5)	2,60±0,20	0,00±0,00	2,20±0,10	0,00±0,00	4,80±0,24 А-1Р<0,05	4,80±0,24 А-1Р<0,05
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	4,40±0,50 1-2Р<0,05	0,00±0,00	3,40±1,10 1-2Р<0,05	0,00±0,00	7,80±1,80 1-2Р<0,01	7,80±1,80 1-2Р<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 10 (5)	3,20±0,15	0,00±0,00	1,60±0,42 2-3Р<0,05	0,00±0,00	4,80±0,40 2-3Р<0,05	4,80±0,40 2-3Р<0,01
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 10 (5)	3,00±1,00	0,00±0,00	2,10±0,41 2-4Р<0,05	0,00±0,00	5,10±1,52 2-4Р<0,05	5,10±1,52 2-4Р<0,05

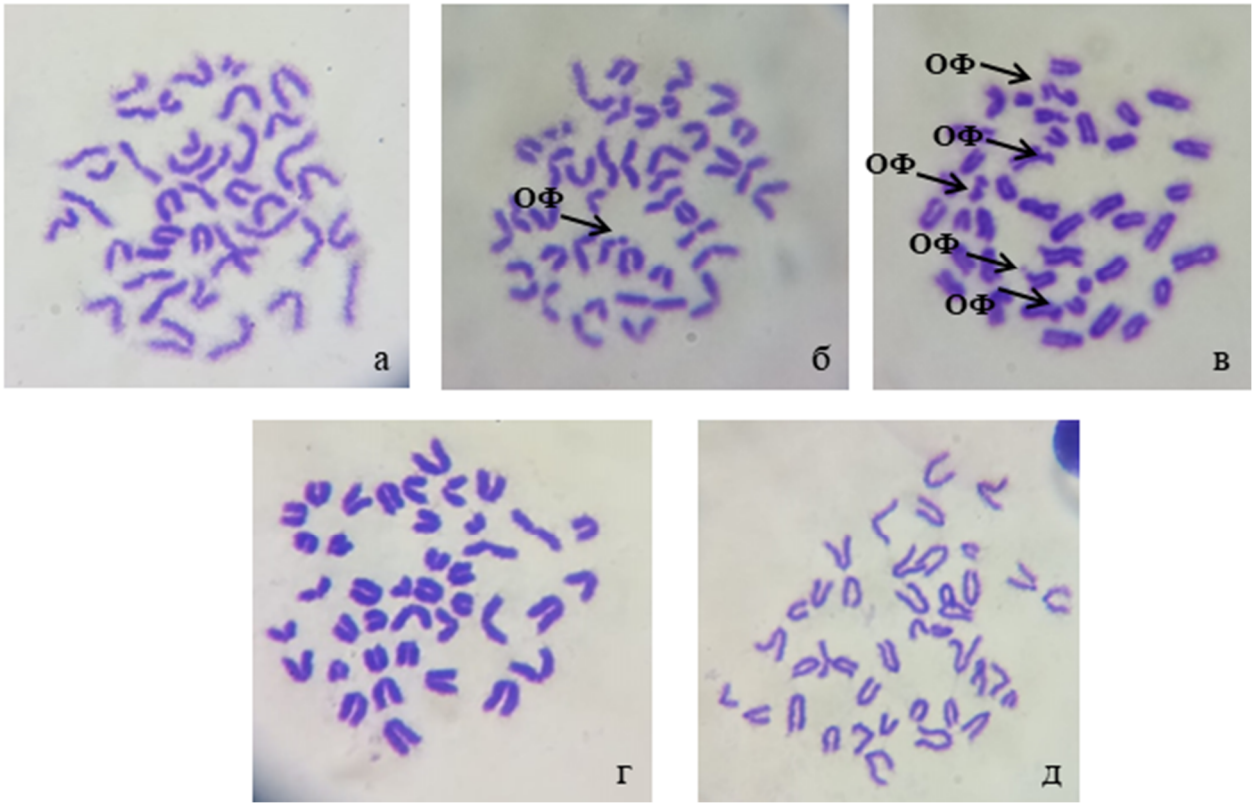

Рисунок 9 – Фотографии метафазных пластинок костного мозга мышей-самок линии C57Bl/6 (а) с карциномой лёгких Льюис (б) через 24 ч (11 сут эксперимента) после однократного введения доксорубицина (в) и антоциансодержащих комплексов из плодов *Sorbus aucuparia* L. (г) и *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (д).
Примечание. Стрелками указаны структурные нарушения хромосом (ОФ – одиночный фрагмент). Окраска азур-эозином, иммерсионный объектив ×100

Через 24 ч после введения доксорубицина в дозе 6 мг/кг в клетках костного мозга показано увеличение числа клеток с хромосомными повреждениями в 2,2 раз ($P<0,01$) по сравнению с соответствующим показателем у животных контрольной группы. В результате цитостатического воздействия были обнаружены одиночные фрагменты и пробелы: их количество возросло в 1,9 и 2,7 раза ($P<0,01$) (см. таблицу 54, рисунок 9,в). На 10 сут после использования цитостатика повреждающие действие на ДНК доксорубицина сохранялось. Так, количество хромосом с аберрациями и процент клеток с хромосомными повреждениями оказались выше в 1,6 раза ($P<0,01$) относительно таковых у мышей с опухолью (см. таблицу 54).

Включение в схему химиотерапии антоциансодержащего комплекса из *S. aucuparia* привело через 24 ч после использования цитостатика к снижению ДНК-повреждений: достоверно уменьшилось количество одиночных фрагментов и пробелов хромосом в 1,8 и 4,1 раза соответственно. Кроме того, наблюдалось снижение числа хромосом с нарушениями (в 2,5 раза, $P<0,01$) по сравнению с показателем в группе монохимиотерапии. Также отмечено достоверное падение количества клеток с хромосомными повреждениями в 2,6 раза (см. таблицу 54, рисунок 9,г). Аналогичный эффект сохранялся при курсовом назначении АСК S-95 совместно с цитостатиком. Так, на 10 сут после инъекции доксорубицина отмечено снижение числа пробелов хромосом в 2,1 раза ($P<0,05$). Количество аберрантных хромосом и процент клеток с хромосомными повреждениями также оказались ниже таковых значений в группе животных с LLC, получавших только цитостатик (см. таблицу 54).

Комбинированное использование растительного комплекса из *A. melanocarpa* совместно с доксорубицином также оказало генопротекторное действие, однако полученный эффект был менее выражен. Так, через 24 ч после инъекции цитостатика в метафазных пластинках клеток костного мозга мышей с опухолью, получавших АСК А-95 на фоне химиотерапии, отмечено достоверное увеличение ДНК-повреждений в сравнении с группой животных, получавших комбинированную терапию, включающую АСК S-95 (см. таблицу 54, рисунок 8,д). На 10 сут после использования антибластомного препарата показано, что включение в схему химиотерапии АСК А-95 привело к достоверному снижению количества аберрантных хромосом, а также процента клеток с хромосомными повреждениями (см. таблицу 54).

Метод ДНК – комет в клетках костного мозга

Развитие карциномы лёгких Льюис оказало токсическое действие на ДНК клеток костного мозга. Так, на 11 сут эксперимента процент ДНК в хвосте кометы у животных с опухолью увеличился в 4,0 раза ($P<0,01$) относительно показателя в группе интактных мышей (таблица 55, рисунок 10,б).

Таблица 55 – Влияние антоциансодержащих комплексов из *Sorbus aucuparia* L. *(*АСК S-95*)* и *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (АСК А-95) на индуцируемую доксорубицином генотоксичность в костном мозге мышей-самок линии С57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис (M±SD)

Группа наблюдений, доза × число введений (количество животных)	% ДНК в хвосте кометы
24 ч после введения доксорубицина (11 сут эксперимента)	
А. Интактный контроль (5)	0,31±0,07
1. Контроль (5)	1,24±0,10 А-1Р<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	2,20±0,37 1-2Р<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 9 (5)	1,00±0,04 2-3Р<0,01
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 9 (5)	0,94±0,05 2-4Р<0,01
10 сут после введения доксорубицина (21 сут эксперимента)	
А. Интактный контроль (5)	0,37±0,09
1. Контроль (5)	1,10±0,09 А-1Р<0,01
2. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 (5)	1,93±0,01 1-2Р<0,01
3. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК S-95, 5 мл/кг × 9 (5)	0,58±0,04 2-3Р<0,01
4. Доксорубицин, 6 мг/кг × 1 + АСК А-95, 5 мл/кг × 9 (5)	0,82±0,12 2-4Р<0,01

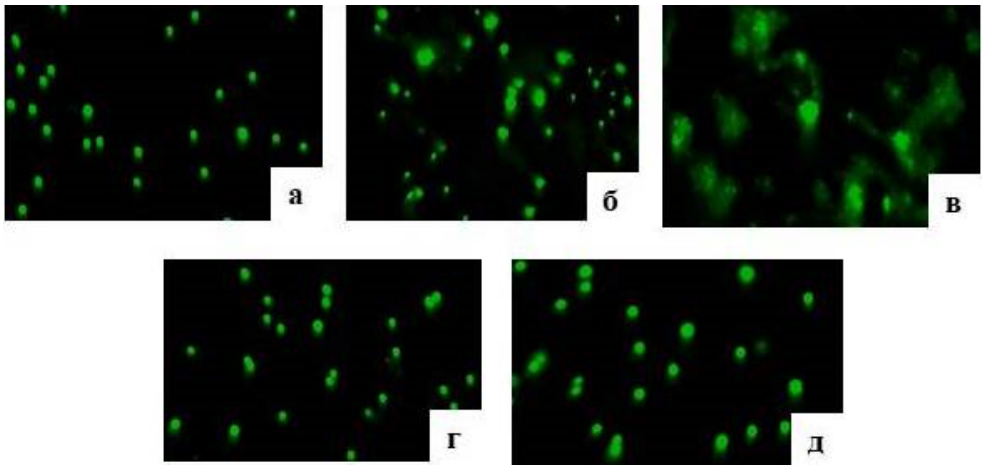

Рисунок 10 – Фотографии ДНК-комет костного мозга мышей-самок линии С57Bl/6 (а) с карциномой легких Льюис (б) через 24 ч (11 сут эксперимента) после однократного введения доксорубицина (в) и антоциансодержащих комплексов из плодов *Sorbus aucuparia* L.(г) и *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. (д).

Примечание. Щелочной гель-электрофорез. Окраска SYBR Greem I, увеличение ×200

Назначение доксорубицина животным с LLC привело к более выраженным ДНК-повреждениям (см. таблицу 55, рисунок 10,в). Комплексное назначение цитостатика с растительными комплексами оказало протекторное действие на геном здоровых клеток. Через 24 ч после инъекции антибластомного препарата включение антоциансодержащего комплекса из *S. aucuparia L.* в схему химиотерапии привело к достоверному снижению процента ДНК в хвосте кометы в 2,2 раза относительно показателя к группе монохимиотерапии. Аналогичные результаты получены при комбинированном использовании АСК А-95 с доксорубицином (см. таблицу 55, рисунок 10,г,д).

На 10 сут после введения цитостатика такой показатель ДНК-повреждений, как процент ДНК в хвосте кометы клеток костного мозга у животных с карциномой лёгких Льюис, получавших доксорубицин, был значимо выше по сравнению с соответствующим показателем в группе мышей с опухолью. Развитие LLC привело к достоверным изменениям соответствующего показателя относительно интактного контроля. В то же время, в клетках костного мозга животных с опухолью, которым совместно с доксорубицином назначали антоциансодержащие комплексы из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa*, процентное содержание ДНК в хвосте комет достоверно снижалось в 3,3 и 2,4 раза соответственно по сравнению с показателями у животных, получавших только цитостатик (см. таблицу 55).

Таким образом, применение антоциансодержащих комплексов из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* в качестве средств для защиты генома при индукции мутагенеза доксорубицином значительно снижало количество структурных нарушений хромосом в клетках костного мозга мышей как с карциномой лёгких Льюис, так без нее, что может свидетельствовать о наличии у изучаемых растительных комплексов антимутагенных свойств. Возможно, этот вид биологической активности лежит в основе антианемического действия антоциансодержащих комплексов.

4 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Злокачественные новообразования занимают одно из ведущих мест в структуре смертности населения, при этом число пациентов с онкологическими заболеваниями с каждым годом неуклонно растёт. Согласно данным Международного агентства изучения рака ВОЗ, в 2022 году во всем мире было зарегистрировано около 19,3 миллиона новых случаев и 10,0 миллионов смертей в результате онкологических заболеваний [156]. В Российской Федерации в 2022 году впервые выявлено 624 000 случаев злокачественных новообразований и самыми распространенными видами в этот период явились: рак лёгкого, молочной железы, простаты, желудка и кожи [47, 109]. Таким образом, проблема борьбы с онкологическими заболеваниями остается приоритетной.

В последние десятилетия достигнуты несомненные успехи в терапии больных со злокачественными новообразованиями [157, 248, 288, 300, 318]. Так, наряду со стандартными методами (лучевая и химиотерапия, хирургический метод лечения), в настоящее время в современную клиническую онкологию широко внедряются новые подходы для лечения таких заболеваний, например, таргетная, иммуно-, генная, радионуклидная терапия [83, 118, 207, 288, 316]. Однако и эти методы лечения не дают полной гарантии на выздоровление онкологических пациентов. Клинические исследования доказывают, что все они имеют ряд недостатков. Например, назначение больным препаратов на основе ингибиторов контрольных точек (CTLA-4, PD-1 или PD-L1) может оказывать токсическое действие на здоровые ткани, что проявляется в развитии дерматита, энтероколита, пульмонита и гипо/ гипертиреоза, реже – нефрита, гепатита, панкреатита и миозита. Такие побочные эффекты чаще всего являются следствием развития аутоиммунных реакций [278].

Действие препаратов таргетной терапии (трастузумаб, ритуксимаб, бевацизумаб, мабтера, гливек и др.) в основном направлено на белки, играющие важную роль в жизнедеятельности опухолевой клетки, участвующие в

процессах канцерогенеза и определяющие способность опухоли к прогрессии и метастазированию. Однако препятствием к успеху является развитие резистентности опухолей к такой терапии, поскольку, блокируя одну мишень, нельзя исключить активацию новой. В опухолевых клетках есть множество сигнальный путей, участвующих в прогрессировании опухоли [105]. Кроме того, стоимость современных таргетных и иммунотерапевтических препаратов достаточно высока, что также ограничивает их широкое применение в клинике [122].

Генная терапия в современной онкологии направлена либо на редактирование генома с помощью CRISPR/Cas9-технологий [76, 202, 274], либо на управление экспрессией генов в опухолевой клетке, например, с использованием различных регуляторных молекул (микроРНК, миРНК, мРНК и др.) [7, 51, 139, 227, 244, 362]. Однако этот, на первый взгляд, прорывной подход в лечении злокачественных новообразований также имеет ряд отрицательных сторон, в частности, использование CRISPR/Cas9-технологии, наряду с заданными изменениями в геноме, может, затрагивая другие его участки, вызывать нецелевые мутации [274]. Экспериментальные исследования регуляторных молекул доказывают, что их введение в организм изменяет направленную экспрессию генов не только в опухолевых, но и здоровых клетках, что может привести к ряду побочных эффектов. Таким образом, необходимы широкие исследования безопасности и эффективности, прежде чем препараты на основе регуляторных нуклеиновых кислот можно будет использовать для лечения таких пациентов [7].

Одним из направлений ядерной медицины является радионуклидная терапия, основанная на облучении непосредственно патологических очагов за счёт введения в организм пациента радиофармпрепаратов [44, 118]. Недостатками этого метода являются более ограниченные, чем для обычной лучевой терапии, клинические показания, невозможность изменять режим фракционирования внутреннего облучения и низкая точность дозиметрического планирования. Кроме того, специальные радиационно-гигиенические требо-

вания к помещениям, системам вентиляции и канализации влекут за собой большие организационные сложности [289, 332].

Все вышесказанное свидетельствует о том, что классическая химиотерапия еще длительное время будет оставаться основой медикаментозного лечения онкологических пациентов. Однако токсичность в отношении здоровых клеток организма и быстрое развитие химиорезистентности опухоли в процессе лечения лимитируют использование цитостатиков. Введение антибластомных препаратов в стандартных режимах приводит к развитию цитостатической болезни, повреждению быстро обновляющихся клеточных систем, в результате чего возникают гематологическая, гастроинтестинальная, кардио-, иммуно- и нейротоксичность [84, 103, 260]. Кроме того, возможности существующих химиопрепаратов пока не позволяют достигать стопроцентной ремиссии.

Одним из подходов к решению проблемы повышения эффективности цитостатической терапии и снижения её токсичности является использование в схемах лечения природных соединений, которые в большинстве случаев могут сочетать в себе высокую антипролиферативную активность по отношению к опухолевым и низкую токсичность для нормальных клеток [241]. Исследованиями многих научных коллективов показана возможность использования в комплексной терапии злокачественных новообразований различных природных соединений: флавоноидов, алкалоидов, гликозидов, полисахаридов [307, 324, 367].

Установлено, что использование препаратов из лекарственных растений, содержащих в своем составе флавоноиды, гликозиды, дубильные вещества, приводит к ингибиции развития опухолей и метастазов, а также повышению эффективности химиотерапии [23, 24]. Кроме того, доказана их способность снижать гемато-, гепато-, иммунотоксичность, вызванные использованием антибластомных средств.

Интересными для онкологов, помимо описанных выше БАВ, остаются растительные полисахариды. Так, водорастворимые полисахариды из корне-

вищ аира болотного способны тормозить рост и метастазирование перевиваемых опухолей у животных, повышать эффективность проводимой химиотерапии путем воздействия на защитные силы организма. Включение в схему химиотерапии полисахаридов из мать-и-мачехи приводит как к повышению эффективности специфического лечения, так и снижению токсического действия цитостатиков на систему крови, печень, а также слизистую оболочку тонкого кишечника [66, 104].

Таким образом, препараты на основе БАВ растительного происхождения могут использоваться как в качестве корректоров цитостатической терапии, так и средств, назначаемых между курсами лечения для профилактики метастазирования и рецидивирования опухолей [24].

Перспективными источниками БАВ являются рябина обыкновенная (*Sorbus aucuparia L.)* и арония черноплодная (*Aronia melanocarpa (Michx.) Elliott.). S. aucuparia* содержит в своем составе множество соединений, таких как макро– и микроэлементы, витамины, дубильные вещества, фосфолипиды, полисахариды, полифенолы [80, 291]. В *A. melanocarpa* обнаружены углеводы, органические кислоты, аминокислоты, минералы, витамины, ароматические соединения и полифенолы [208, 276].

Известно, что полифенолы и другие биологически активные вещества, содержащиеся в различных частях как *S. aucuparia*, так и *A. melanocarpa*, обладают широким спектром биологической активности и низкой токсичностью. В литературе имеются сведения о следующих свойствах *S. aucuparia*: антиоксидантных [153, 291, 323], противодиабетических [293], противовоспалительных, противоопухолевых [128, 140, 312], кардио- [217], нейро- [239] и гепатопротекторных [131, 179]. Использование *A. melanocarpa* оказывает положительное влияние на иммунную [204, 276, 315], сердечно-сосудистую [124], пищеварительную системы [271]. Отмечено, что экстракт из плодов аронии оказывает гиполипидемическое [364], антиоксидантное действие [283, 342]. Встречаются отдельные сведения о том, что экстракты, выделен-

ные из различных частей аронии черноплодной и рябины обыкновенной, оказывают противоопухолевое действие [168, 171, 265].

Перечисленные факты свидетельствуют о том, что *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* могут быть перспективны в качестве источников новых фармакологических средств для дополнительной терапии опухолей.

В этой связи, проведение настоящего исследования, посвященного оценке возможности повышения противоопухолевой и антиметастатической эффективности химиотерапии опухолей с помощью растительных комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa,* представляется актуальным.

Первый этап работы посвящён изучению влияния антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* на развитие перевиваемых опухолей и эффективность цитостатической терапии. Для исследования были выбраны широко используемые в мировой практике экспериментальные модели опухолей: карцинома лёгких Льюис, рак лёгкого-67, меланома B-16. Эксперименты, проведённые на мышах с перевиваемыми опухолями, направлены на оценку влияния изучаемых растительных комплексов на рост первичной опухоли и метастазы. LLC характеризуется высокой интенсивностью диссеминации опухоли и даёт макроскопические метастазы, доступные для качественного и количественного анализа простыми способами, а по чувствительности к цитостатикам аналогична опухолям человека [192].

Антоциансодержащие комплексы из плодов *S. aucuparia,* приготовленные на 40% и 95% этаноле (АСК S-40; АСК S-95), предварительно деалкоголизировали на водяной бане, доводили до прежнего объёма дистиллированной водой, вводили животным внутрижелудочно в дозах 1 и 5 мл/кг, начиная с 7 сут после перевивки опухоли, то есть с момента появления опухолевых узелков, и продолжали в течение 13 сут. Для оценки возможности повышения эффективности химиотерапии изучаемыми антоциансодержащими комплексами использовали циклофосфан в дозе 125 мг/кг, вызывающей умерен-

ное (на 30–60%) торможение роста опухоли при однократном внутрибрюшинном введении на 10 сут после перевивки.

Выявлено, что если изолированное введение циклофосфана в дозе 125 мг/кг привело к торможению роста опухоли и метастазов, то при его совместном назначении с АСК S-40 наблюдалось повышение противометастатического действия противоопухолевого препарата (см. таблицу 7). Подобные результаты были получены и при комбинированном использовании АСК S-95 в дозах 1 и 5 мл/кг совместно с циклофосфаном: количество метастазов и их площадь у мышей оказались многократно меньше, частота метастазирования составила 20% и 38% против 90% у животных группы монохимиотерапии. Следует отметить, что в группах комбинированной терапии ИИМ оказался наивысшим, достигая 99% (см. таблицу 9).

В случае изолированного назначения мышам с карциномой лёгких Льюис растительных комплексов из *S. aucuparia,* приготовленных на спиртовом растворителе различных концентраций, 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 (см. таблицу 9).

Цитостатики не обладают избирательным действием и поражают кроме опухолевых здоровые ткани с высокой пролиферативной активностью, в частности, кроветворную. Следствием миелотоксического действия цитостатиков является снижение числа лейкоцитов, тромбоцитов и эритроцитов в периферической крови. Гематологические осложнения химиотерапии разной степени выраженности встречаются у 88% больных онкологического профиля [48]. В связи с этим в настоящем исследовании помимо влияния растительных комплексов из *S. aucuparia*, приготовленных на 40% и 95% этаноле, на развитие LLC и эффективность цитостатической терапии проведена оценка их действия на систему крови в условиях химиотерапии.

Снижение гематотоксичности, судя по основным показателям эритропоэза количеству эритроцитов и уровню гемоглобина в периферической кро-

ви, наблюдается лишь при использовании приготовленного на 95% этаноле антоциансодержащего комплекса из *S. aucuparia* совместно с циклофосфаном (см. таблицу 10).

В таблице 56 представлены сводные результаты влияния антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia*, приготовленных на 40% и 95% этаноле, на развитие карциномы лёгких Льюис и эффективность циклофосфана, а также на систему крови.

Таблица 56 – 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 циклофосфана (ЦФ)

Антоциан-содержащие комплексы	Ингибирующее действие		Повышение эффективности химиотерапии		Влияние на систему крови
	на опухоль	на метастазы	на опухоль	на метастазы	
1. АСК S-40	–	–	–	+	Тромбоцитопения
2. АСК S-95	+	+	–	+	Снижение гематотоксичности ЦФ
Примечание: «+» – наличие, «–» – отсутствие					

По данным химического анализа, фенольные соединения исследуемых растительных комплексов из плодов *S. aucuparia* представлены флавоноидами, в том числе, антоцианами, фенолокислотами и дубильными веществами (см. таблицу 4). Из таблицы следует, что исследуемые комплексы значительно отличаются по содержанию антоцианов. Сотрудниками кафедры фармацевтического анализа СибГМУ 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 условием извлечения которых из сырья является 95% подкисленный этанол [45].

Антоцианы – биологически активные вещества из группы флавоноидов, в изобилии содержатся в различных фруктах и овощах [249, 351]. Эти соединения обладают противоопухолевыми, антиметастатическими, антиоксидантными, иммуномодулирующими, противовоспалительными свойствами [249].

Согласно данным ВЭЖХ, исследуемые комплексы 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 (см. таблицу 5). Следовательно, сравнительный анализ эффективности АСК S-40 и АСК S-95 показал, что наиболее перспективным для дальнейшего исследования в качестве нового фармакологического средства для дополнительной терапии опухолей с целью повышения эффективности и снижения токсичности применяемой химиотерапии является антоциансодержащий комплекс из *S. aucuparia*, приготовленный на 95% этаноле, в связи с высоким содержанием в них антоцианов, которые обладают широким спектром фармакологической активности.

Другим объектом исследования явился приготовленный на 95% этаноле антоциансодержащий комплекс из плодов *A. melanocarpa* (АСК A-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 карциномой лёгких Льюис показано, что АСК A-95 преимущественно ингибирует процесс диссеминации опухоли. Так, при включении в схему химиотерапии АСК A-95 наблюдается дозозависимое снижение количества и площади метастазов в лёгких. Изолированное назначение мышам с опухолью антоциансодержащего комплекса из *A. melanocarpa* в дозах 1 и 5 мл/кг приводит к достоверному уменьшению площади метастатического поражения (см. таблицу 11). На фоне химиотерапии не отмечено действия АСК A-95 на по-

казатели периферической крови у животных с опухолью, сниженные после введения циклофосфана (см. таблицу 12).

Согласно рекомендациям по доклиническим исследованиям (2005, 2013) [100, 101], для подтверждения противоопухолевого и антиметастатического действия новых фармакологических веществ, а также их влияния на эффективность химиотерапии, помимо карциномы лёгких Льюис обязательными экспериментальными моделями *in vivo* являются меланома В-16 (В-16) и рак лёгкого-67 (РЛ-67), поэтому на следующем этапе исследования в экспериментах использовались эти модели метастазирующих опухолей.

На мышах линии С57Bl/6 с перевитым РЛ-67 выявлено, что на фоне умеренного ингибирующего влияния циклофосфана на процесс диссеминации опухоли использование антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* приводит к повышению противометастатической активности цитостатика (см. таблицы 13, 14). Аналогичные результаты получены на животных с меланомой В-16, получавших АСК S-95 совместно с циклофосфаном (см. таблицу 15). В то же время, повышения эффективности химиотерапии у мышей с меланомой В-16 под воздействием растительного комплекса из *A. melanocarpa* не обнаружено (см. таблицу 16).

При изолированном назначении изучаемых антоциансодержащих комплексов животным с раком лёгкого-67 отмечено их антиметастатическое действие (см. таблицы 13, 14). Необходимо отметить, что использование АСК А-95 в большей дозе (5 мл/кг) привело к стимуляции развития данной опухоли (см. таблицу 14).

В то же время, на модели меланомы В-16 показано, что введение изучаемых антоциансодержащих комплексов из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* ингибирует рост первичного опухолевого узла (см. таблицы 15, 16).

В таблице 57 представлены результаты влияния антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia*, *A. melanocarpa* на развитие РЛ-67, В-16 у мышей и эффективность их лечения циклофосфаном.

Таблица 57 – Влияние антоциансодержащих комплексов из плодов *Sorbus aucuparia* L. (АСК S-95), *A. melanocarpa (*Michx.) Elliott. (АСК А-95) на развитие рака лёгкого 67 (РЛ-67), меланомы В-16 (В-16) у мышей и эффективность их лечения циклофосфаном (ЦФ)

Антоциансодержащие комплексы	Экспериментальные модели	
	РЛ-67	В-16
Эффективность ЦФ		
1. АСК S-95	*	*
2. АСК А-95	*	–
Развитие опухоли и метастазов		
1. АСК S-95	+	●
2. АСК А-95	Стимуляция первичного опухолевого узла	●

Примечание: «*» – повышение эффективности антиметастатического действия цитостатика; «+» – антиметастатическое действие; «●» – противоопухолевое действие

Таким образом, полученные данные по изучению влияния антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* на развитие перевиваемых опухолей животных и эффективность цитостатического лечения подтверждают возможность создания на их основе препаратов для дополнительной терапии злокачественных новообразований.

Говоря о возможных механизмах противоопухолевого действия антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa,* следует учитывать тот факт, что антоцианы, которыми богаты изучаемые растительные комплексы, способны регулировать клеточный цикл. Установлено, что использование этих веществ прерывает клеточный цикл в G1 или G2 фазах, что приводит к индукции апоптоза и ингибиции пролиферации [186, 176] (рисунки 11, 12).

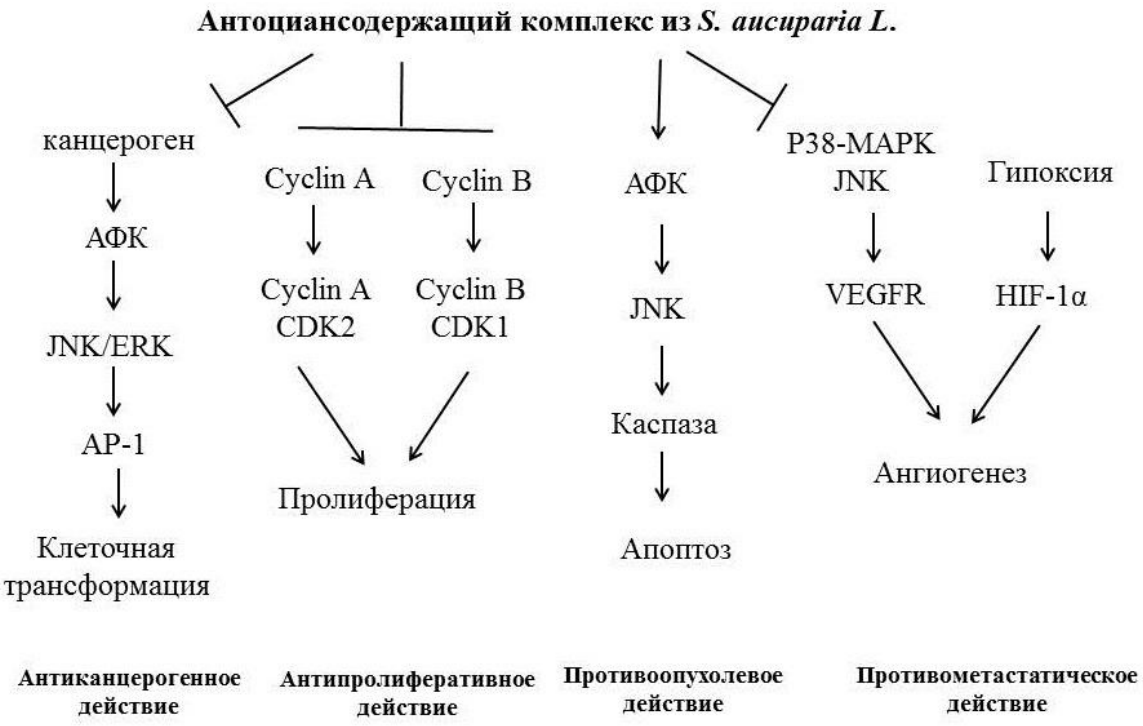

Рисунок 11 – Механизмы антиканцерогенного, антипролиферативного, противоопухолевого и противометастатического действия антоциансодержащего комплекса из *S. aucuparia L.*

Примечание: АФК – активные формы кислорода; AP-1 – белок активатор 1; ERK – внеклеточная сигнально-регулируемая киназа; JNK – c-Jun NH2-концевая киназа; CDK – циклинзависимые киназы; P38-MAPK – митоген-активируемая протеинкиназа p38; VEGFR – рецептор фактора роста эндотелия сосудов; HIF-1α – фактор, индуцируемый гипоксией 1-альфа; ↓ – активация; ⊥ – блокировка (по данным анализируемых литературных источников) [145, 197, 266, 338]

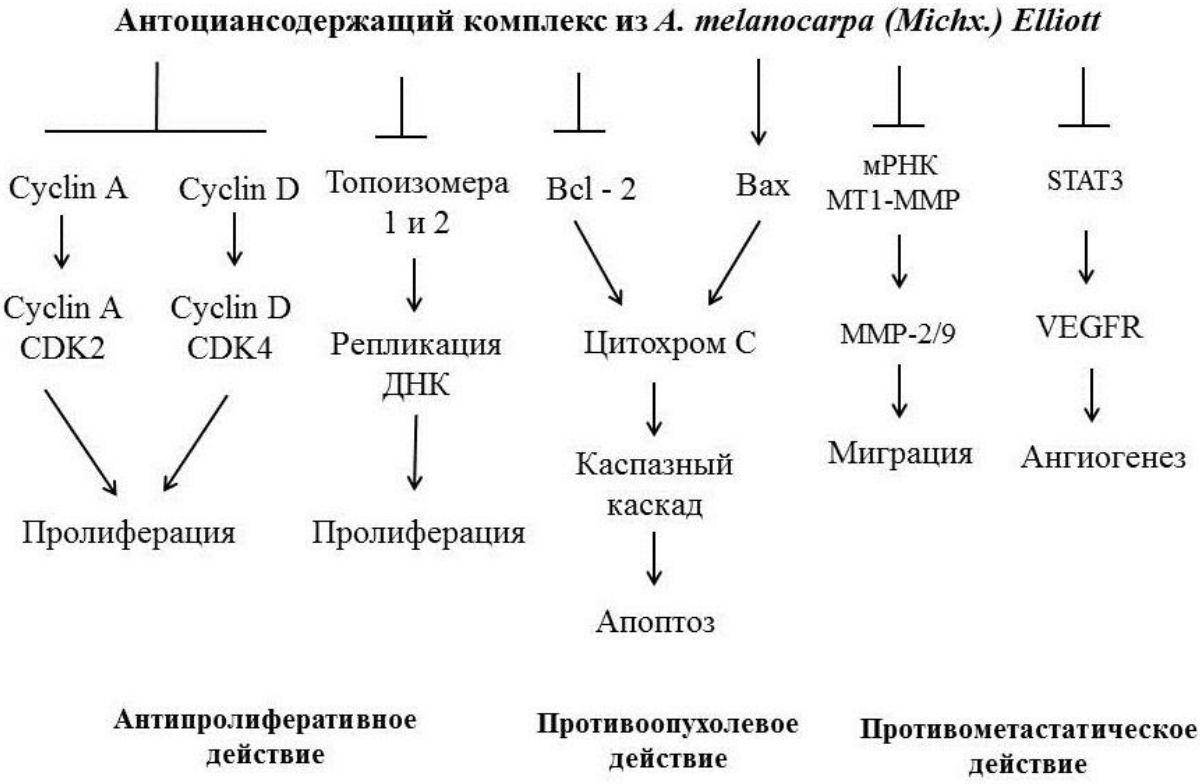

Рисунок 12 – Механизмы антипролиферативного, противоопухолевого и противометастатического действия антоциансодержащего комплекса из *A. melanocarpa* (Michx.) Elliott.

Примечание: CDK – циклинзависимые киназы; Bcl–2 и Bax – внутриклеточные белковые факторы апоптоза; мРНК MT1–MMP – матричная РНК матриксной металлопротеиназы; MMP–2/9 – матриксные металлопротеиназы 2/9; STAT3 – сигнальный белок и активатор транскрипции 3; VEGFR – рецептор фактора роста эндотелия сосудов; HIF-1α – фактор, индуцируемый гипоксией 1-альфа; ↓ – активация; ⊥ – блокировка (по данным анализируемых литературных источников) [143, 167, 186, 204]

Другим механизмом, приводящим к торможению роста первичного опухолевого узла, может быть ингибирующее влияние антоцианов из *S. aucuparia* на транскрипционную активность фактора AP-1 и клеточную трансформацию через блокировку сигнального пути JNK/ ERK [143] (см. рисунок 11).

Апоптоз, или программируемая клеточная гибель, свойственна всем клеткам, в том числе опухолевым. Возможными индукторами апоптоза опу-

холевых клеток могут выступать антоцианы, содержащиеся в *S. aucuparia.* Так, Hou D.X. et al. [197] показано, что добавление в культуру клеток HL-60 дельфинидиновых и цианидиновых гликозидов, выделенных из *S. aucuparia,* индуцирует клеточный апоптоз. При исследовании соотношения «структура-активность» выявлено, что гидроксильные группы в кольце В придают молекуле антоцианидина более высокую проапоптотическую активность [199]. Другим механизмом запуска апоптоза антоцианами *S. aucuparia* может быть их влияние на окислительный JNK-опосредованный каспазный путь [199] (см. рисунок 11).

Антоцианы *A. melanocarpa* также способны индуцировать апоптоз в опухолевых клетках посредством высвобождения митохондриального цитохрома С, активации ферментов, высвобождающих каспазу, увеличения соотношения регуляторных белков (Bax и Bcl-2) [167]. Другим возможным механизмом запуска апоптоза с помощью растительного комплекса из *A. melanocarpa*, богатого антоцианами, является их влияние на активность топоизомераз. Ферменты топоизомеразы I и II играют жизненно важную роль в репликации ДНК, облегчая раскручивание суперспиральной ДНК. Следовательно, ингибирование активности топоизомеразы предотвращает репликацию ДНК, что приводит к апоптозу [344]. В экспериментальных работах выявлено, что использование экстракта из плодов *A. melanocarpa* приводит к снижению активности топоизомеразы I и II в опухолевых клетках HT-29 [172] (см. рисунок 12).

В противометастатическом действии антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* имеет значение способность антоцианов тормозить процесс ангиогенеза через подавление экспрессии VEGF в гладкомышечных клетках сосудов путем блокирования путей p38-MAPK и JNK [266]. Другим возможным механизмом антиметастатического действия растительного комплекса из *S. aucuparia,* является ингибирующее влияние антоцианов на экспрессию HIF-1α [338] (см. рисунок 11).

Противометастатический эффект антоциансодержащего комплекса из *A. melanocarpa* также опосредуется подавлением антоцианами ангиогенеза. Однако это действие связано с подавлением активности другого сигнального пути – STAT3 [204]. Кроме того, подавление инвазии опухолевых клеток антоцианами из *A. melanocarpa,* возможно, осуществляется путем снижения ими экспрессии металлопротеиназ и урокиназного активатора плазминогена, а также стимуляции экспрессии тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы-2 и ингибитора активатора плазминогена [143] (см. рисунок 12).

В проведенных 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 карциномой лёгких Льюис установлена возможность снижения гематотоксичности цитостатической терапии антоциансодержащими комплексами из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa*.

Анемия встречается у половины онкологических больных, особенно при распространенном процессе, у пациентов, получающих химиотерапию, её частота достигает 90% [313]. Вследствие анемии в организме развивается гемическая гипоксия, при этом снижение содержания кислорода менее 1% стимулирует выработку опухолевыми клетками факторов транскрипции, таких как HIF-1α, NF-kB и AP-1 [334]. Индуцируемые ими изменения активности генома приводят к адаптации клеток к гипоксическому состоянию, стимулируют ангиогенез, блокируют апоптоз, способствуя усилению опухолевого роста, инвазии и метастазированию. Низкие концентрации кислорода также оказывают мутагенное действие, усиливают нестабильность генома и, соответственно, вариабельность опухолевых клеток, что является основой для дальнейшей клональной селекции наиболее устойчивых линий. Низкое содержание кислорода в клетке является фактором химиорезистентности опухоли. Гипоксическое состояние способствует агрессивному развитию опухолей и является универсальным фактором неблагоприятного про-

гноза [303]. Снижение тяжести анемии может приводить к повышению оксигенации опухоли и, тем самым, повышать эффективность терапии через преодоление резистентности к цитостатическому лечению [81].

В связи с этим, целью следующего этапа исследования явилось изучение влияния антоциансодержащих комплексов из плодов *S. auccuparia* и *A. melanocarpa* на состояние системы крови мышей на фоне цитостатической миелосупрессии.

Согласно Руководству по проведению доклинических исследований [100], наличие гемостимулирующей активности у фармакологических веществ выявляется на интактных животных и на модели миелосупрессии, вызванной введением цитостатиков в максимально переносимой дозе.

В качестве агента, индуцирующего гипоплазию кроветворения, был выбран цитостатический препарат из группы антибиотиков антрациклинового ряда – доксорубицин в максимально переносимой дозе 6 мг/кг [41]. Он рекомендован в качестве препарата для моделирования цитостатической миелосупрессии, характеризующейся преимущественным поражением эритроидного ростка кроветворения [100].

В эксперименте установлено, что однократное введение доксорубицина мышам в дозе 6 мг/кг приводит к угнетению всех ростков кроветворения. Так, в периферической крови животных на 3–7 сут эксперимента наблюдалось развитие лимфопении. Наиболее глубокая депрессия была зарегистрирована со стороны показателей красной крови. Так, 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 после введения доксорубицина (см. таблицы 17, 20).

Картине периферической крови соответствовали изменения в костном мозге подопытных животных. Так, на 3–12 сут после использования доксорубицина отмечались отчетливые признаки подавления костномозгового кроветворения, проявляющиеся в снижении клеточности костного мозга и отдельных ростков кроветворения. При этом отмечено достоверное умень-

шение количества зрелых и незрелых нейтрофильных гранулоцитов (3–15 сут), лимфоидных клеток (3–5 сут) относительно таковых у интактных мышей. На 3 и 5 сут после введения цитостатика в костном мозге также зафиксирована глубокая депрессия эритроидного ростка кроветворения (см. таблицы 18, 21).

Изучение колоние- и кластерообразующей способности костного мозга мышей после введения им противоопухолевого антибиотика выявило ее глубокую депрессию. На 3 сут отмечено достоверное снижение числа КОЕ-Э и КлОЕ-Э с последующим их восстановлением к 7–10 сут эксперимента (см. таблицы 19, 22).

Установленные нами изменения в целом соответствуют литературным данным, касающимся действия антибиотиков антрациклинового ряда на систему крови. Известно, что доксорубицин вызывает угнетение гемопоэза [121], и наибольшей чувствительностью к воздействию этого препарата обладает эритроидный росток кроветворения [26, 41]. Механизм действия доксорубицина связан с нарушением вторичной спирализации ДНК и запуском окислительного стресса [115].

Использование антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* оказало стимулирующее действие на процессы восстановления эритропоэза, угнетенного доксорубицином. Ускоренная регенерация эритроидного ростка кроветворения при назначении растительных комплексов совместно с цитостатиком отмечена преимущественно в ранние сроки эксперимента (3–5 сут) (см. таблицы 17–22).

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 доксорубицином, более выраженным оказался эффект антоциансодержащего комплекса из плодов

A. melanocarpa. 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 (рисунок 13,в). 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 (рисунок 13,а,б).

Сравнительный анализ стимулирующего эффекта растительных комплексов в отношении предшественников эритропоэза на фоне действия доксорубицина 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 из *S. aucuparia* 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 13,г,д).

Таким образом, в данном разделе работы показано, что курсовое назначение антоциансодержащих комплексов 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.* В ранее проведенном эксперименте была выбрана наиболее оптимальная доза доксорубицина (6 мг/кг), приводящая к умеренному торможению развития карциномы легких Льюис, а также сопутствующему анемическому синдрому (см. таблицы 23, 24). Выбранная доза цитостатика была использована для дальнейшего изучения влияния антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* на эффективность химиотерапии и на токсическое действие цитостатика на систему крови в условиях опухолевого роста.

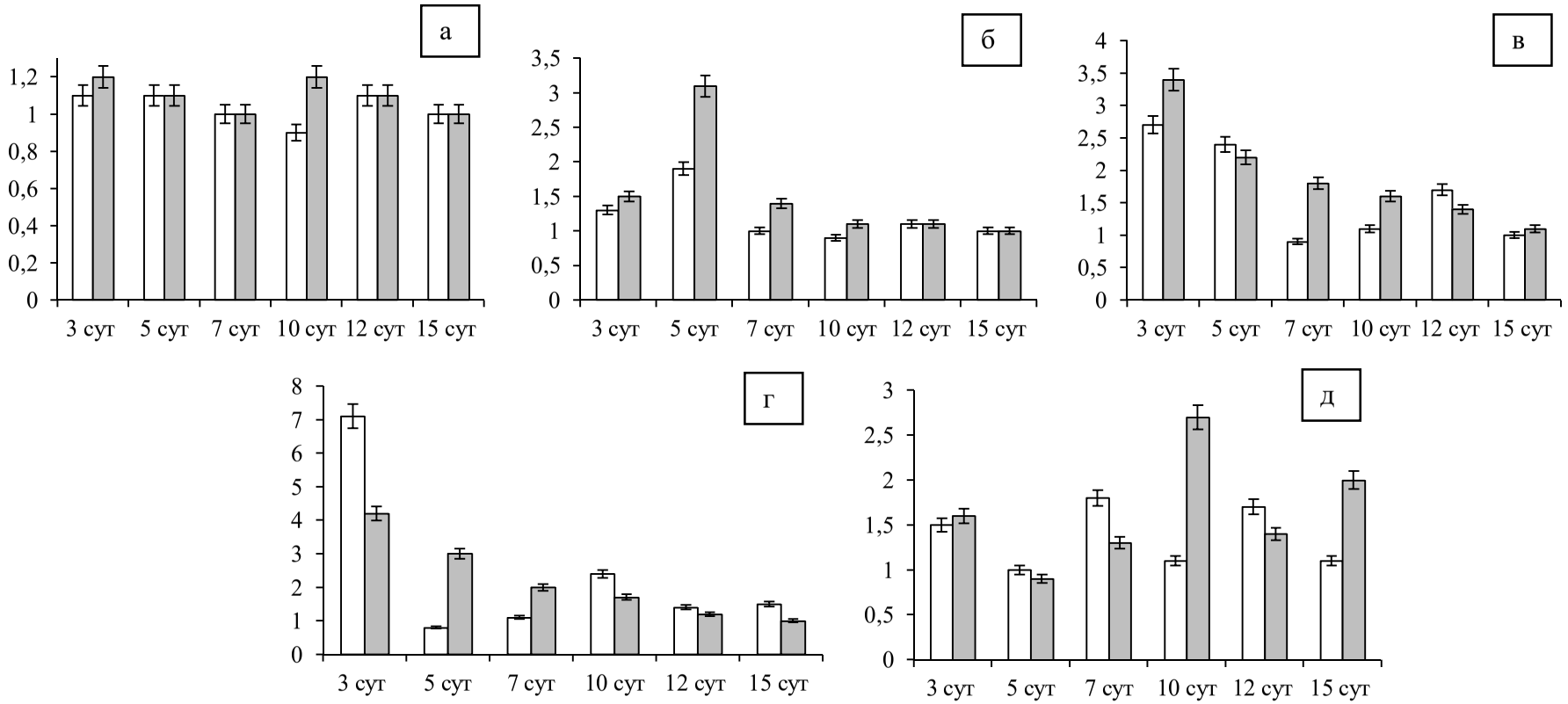

Рисунок 13 – Степень увеличения содержания эритроцитов (а), ретикулоцитов (б) в периферической крови, эритрокариоцитов (в), КОЕ-Э (г) и КлОЕ-Э (д) в костном мозге мышей линии С57Bl/6 при применении доксорубицина и антоциансодержащего комплекса из плодов *S. aucuparia L.* (□), либо доксорубицина и антоциансодержащего 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

Следующий раздел посвящён оценке возможности повышения эффективности противоопухолевого и антиметастатического действия, а также снижения гематотоксичности доксорубицина при добавлении в схему лечения животных с опухолью антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa.* Доксорубицин вводили мышам линии C57BL/6 с LLC внутрибрюшинно в дозе 6 мг/кг на 10 сут после перевивки опухоли. Исследуемые растительные комплексы животные получали внутрижелудочно, в дозе 5 мл/кг курсом, начиная с 7 сут после трансплантации LLC и до конца эксперимента. При этом оценивали стандартные показатели опухолевого роста и процесса метастазирования, а также костномозгового кроветворения.

В эксперименте установлено, что при назначении доксорубицина мышам с карциномой лёгких Льюис наблюдалось снижение количества метастазов в лёгких. Добавление в схему лечения антоциансодержащего комплекса из плодов *S. aucuparia* 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 доксорубицин (см. таблицу 27).

Полученные данные аналогичны ранее описанным результатам изучения влияния растительного комплекса из плодов *S. aucuparia* на эффективность лечения циклофосфаном мышей с карциномой лёгких Льюис.

Выявлено, что сочетанное использование растительного комплекса из плодов *A. melanocarpa* с доксорубицином не изменяет эффективность последнего (см. таблицу 32). Следовательно, для повышения эффективности антибластомной терапии антоциансодержащий комплекс из *A. melanocarpa* целесообразно включать в схему химиотерапии, содержащей цитостатики алкилирующего действия, например циклофосфан.

Изучение влияния развития опухоли на систему крови мышей показало, что развитие LLC в 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 (см. таблицы 28, 29, 33, 24). При изучении колониеобразующей способности клеток-предшественников эритропоэза отмечено, что развитие карциномы лёгких Льюис на 15–20 сут эксперимента приводит к увеличению содержания КлОЕ-Э и КОЕ-Э в костном мозге (см. таблицы 30, 35). 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 карциномы лёгких Льюис 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 на процесс дифференцировки клеток-предшественников эритропоэза (см. таблицы 38, 43–45).

Известно, что рост злокачественных опухолей часто сопровождается развитием анемии, которая имеет сложное происхождение, и может быть обусловлена различными причинами, включая дефицит железа, подавление эритропоэза, гемолиз [141]. В норме последний наблюдается после завершения жизненного цикла эритроцитов, который составляет 120 дней. Однако при воздействии различных факторов, в том числе, развития первичного опухолевого узла, этот срок значительно уменьшается. Еще одним механизмом развития анемии на фоне опухолевой прогрессии является нарушение обмена железа, что связано с усиленным образованием в гепатоцитах гепсидина, ко-

торый ингибирует абсорбцию железа в двенадцатиперстной кишке и блокирует высвобождение железа из макрофагов [97].

При введении мышам с опухолью доксорубицина наблюдалось усугубление депрессии костномозгового кроветворения, в основном за счёт угнетения эритроидного ростка (см. таблицы 28–30, 33–35), что соответствует данным литературы. Показано, что назначение доксорубицин-содержащей схемы химиотерапии (R-CHOP) пациентам с В-клеточной лимфомой приводит к развитию анемического синдрома, который сохраняется на протяжении 3–6 месяцев после ее использования. Следует отметить, что пациенты, у которых анемия сохранялась через 6 месяцев после использования R-CHOP, имели значительно более высокую частоту развития рецидивов [289]. Известно, что доксорубицин оказывает прямое подавляющее 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 [102].

В настоящем исследовании оценивали корригирующее действие антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* на систему крови мышей в условиях химиотерапии на фоне развития карциномы лёгких Льюис. Показано, что курсовое использование АСК А-95 привело к восстановлению эритроидного ростка кроветворения в более ранние сроки исследования (3 сут после введения доксорубицина), в то время как назначение АСК S-95 оказало аналогичный эффект лишь на 10 сут после инъекции цитостатика (см. таблицы 28–30, 33–35).

Сравнение гемопоэзстимулирующего эффекта растительных комплексов между собой позволило установить более выраженное действие АСК из *A. melanocarpa* на эритроидный росток на ранних сроках после инъекции цитостатика. Так, на 3 сут отмечено превышение кратности стимуляции числа 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 (см. рису-

нок 14,в,г). Однако в последнем случае обнаружено более активное увеличение числа КлОЕ-Э на 3 сут наблюдения. Результатом описанного эффекта явился более выраженный подъем количества специализированных клеток в периферической крови на 5 сут после введения цитостатика под действием АСК S-95 по сравнению с АСК А-95. В противоположность этому, 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* (см. рисунок 14,а,б). 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.

Таким образом, исследование влияния антоциансодержащих растительных комплексов на эффективность химиотерапии и реакции системы крови у мышей с карциномой лёгких Льюис показало, что назначение растительного комплекса из *S. aucuparia* на фоне введения доксорубицина приводит к повышению антиметастатического действия последнего. Кроме того, выявлен защитный эффект в отношении клеток-предшественников эритропоэза на фоне использования цитостатика. Напротив, введение АСК из *A. melanocarpa* практически не влияет на эффективность проводимой химиотерапии, однако его совместное назначение с антибластомным препаратом 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 регуляторных влияний антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* на эритропоэз при цитостатической гемодепрессии, вызванной введением доксорубицина, на фоне развития опухоли.

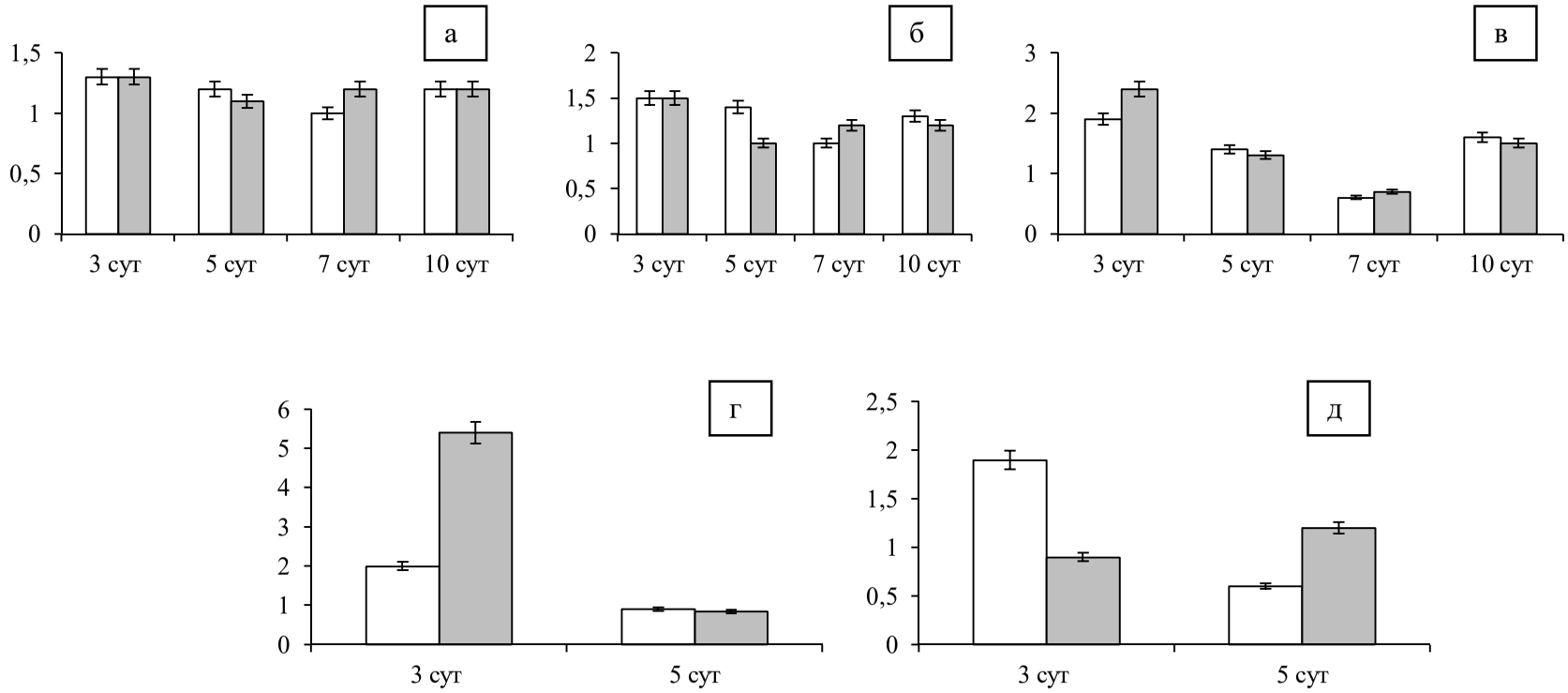

Рисунок 14 – Степень увеличения содержания эритроцитов (а), ретикулоцитов (б) в периферической крови, эритрокариоцитов (в), КОЕ-Э (г) и КлОЕ-Э (д) в костном мозге мышей линии C57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис после введения им доксорубицина и антоциансодержащего комплекса из плодов *S. aucuparia L.* (□), 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 счет синтеза широкого спектра гуморальных факторов [40].

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 (см. таблицу 39).

Известно, что на ранних этапах развития гемопоэтических клеток (начиная с полипотентных стволовых кроветворных клеток) в этом процессе участвуют интерлейкины 3, 6 и 11 [17], 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) [17, 112]. 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, с последующим его снижением к 20 сут эксперимента (см. таблицу 41).

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 снизилась в 1,2 раза относительно фонового значения (см. таблицы 40, 42).

Полученные результаты соответствуют данным литературы. Многие ученые связывают такой эффект с аномальной активностью иммунной системы у пациентов со злокачественными новообразованиями [54, 73, 74]. Известно, что на раннем этапе развития опухолей активируется классический путь трансформации моноцитов (провоспалительный иммунный ответ) [10]. Для этого типа поляризации моноцитов характерен синтез различных медиаторов воспаления, которые снижают время жизни эритроцитов со 120 до 90–60 дней [57, 290]. 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 [97]. 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 [62]. Соответствующие результаты были получены в наших экспериментах, проведенных на мышах с карциномой лёгких Льюис. Так, на 15 и 20 сут наблюдения отмечено достоверное снижение содержания ретикулоцитов. Кроме того, в эти сроки наблюдалось уменьшение количества эритроцитов, а также содержания гемоглобина в периферической крови мышей с опухолью (рисунок 15, см. таблицы 36, 43).

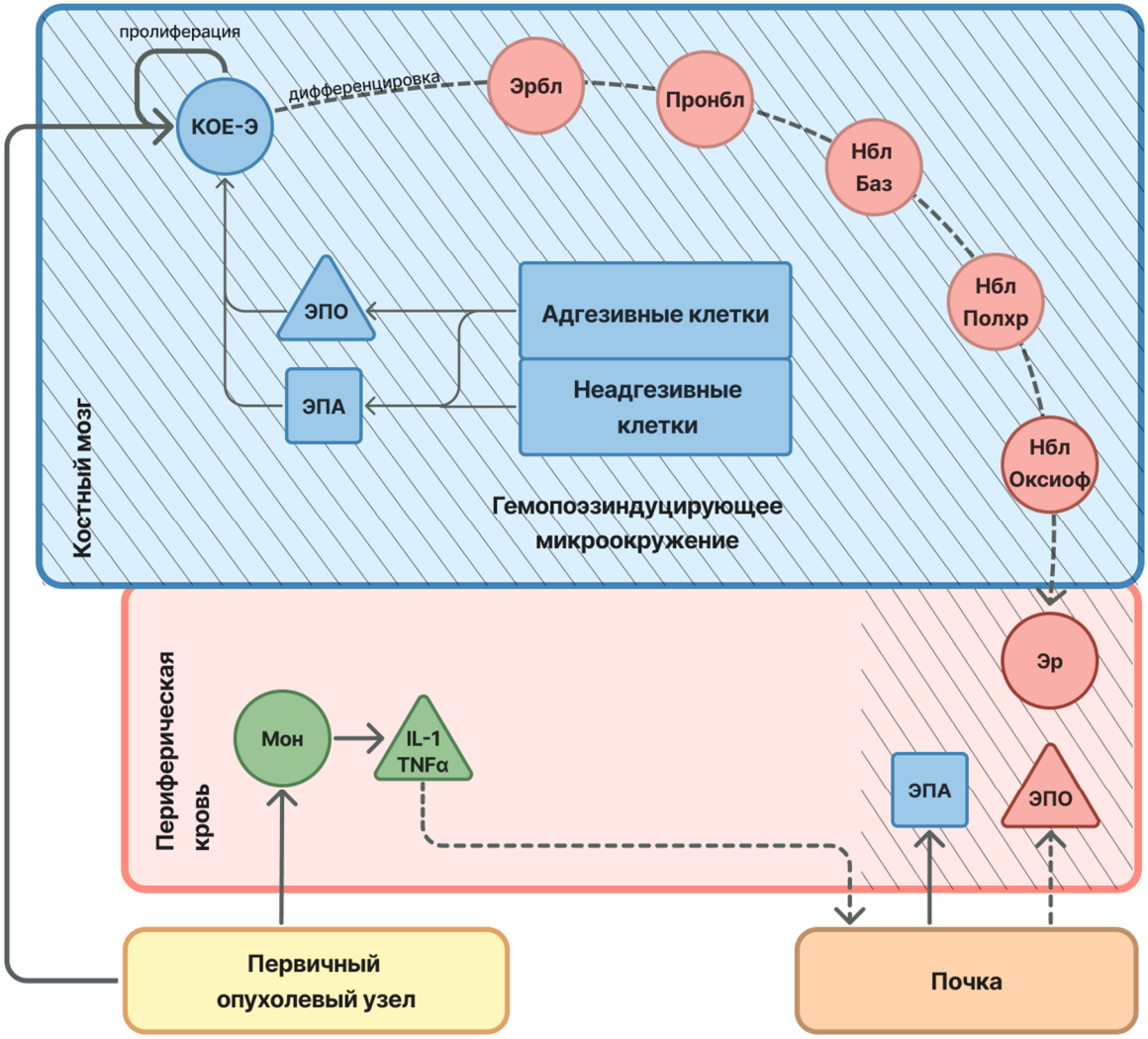

Рисунок 15 – Механизмы развития анемического синдрома на фоне развития злокачественного новообразования (по собственным результатам и данным анализируемых литературных источников) [62, 259].

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

Однократное введение доксорубицина в дозе 6 мг/кг животным с карциномой лёгких Льюис 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 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 (см. таблицы 38, 45).

Указанные изменения могут быть 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, 10 сут увеличивался, то на 5, 7 сут значения данного показателя, напротив, снижались. При этом данный показатель был ниже исходных значений на протяжении всего периода исследования (см. таблицы 38, 45).

Ранее сотрудниками НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга ТНИМЦ было доказано, что изменения содержания гемопоэтических клеток в костном мозге под воздействием доксорубицина имеют двухфазный характер [40], 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 [40, 41]. 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 [40], что согласуется с полученными нами результатами на животных-опухоленосителях. 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 (см. таблицу 39). В сыворотке периферической крови, напротив, отмечено угнетение ЭПА под воздействием доксорубицина (см. таблицу 40). 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 (см. таблицы 41, 42).

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) (см. таблицы 37, 44). Депрессия костномозгового кроветворения сопровождалась соответствующими изменениями содержания зрелых эритроцитов в периферической крови животных с опухолью, получавших антибластомный препарат (см. таблицы 36, 43).

Таким образом, развитие анемии у мышей с карциномой лёгких Льюис еще более усиливается после введения доксорубицина, 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 16).

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 антоциансодержащие комплексы, полученные из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa*, поэтому дальнейшим шагом явилось проведение экспериментов, направленных на изучение их эритропоэзстимулирующей активности.

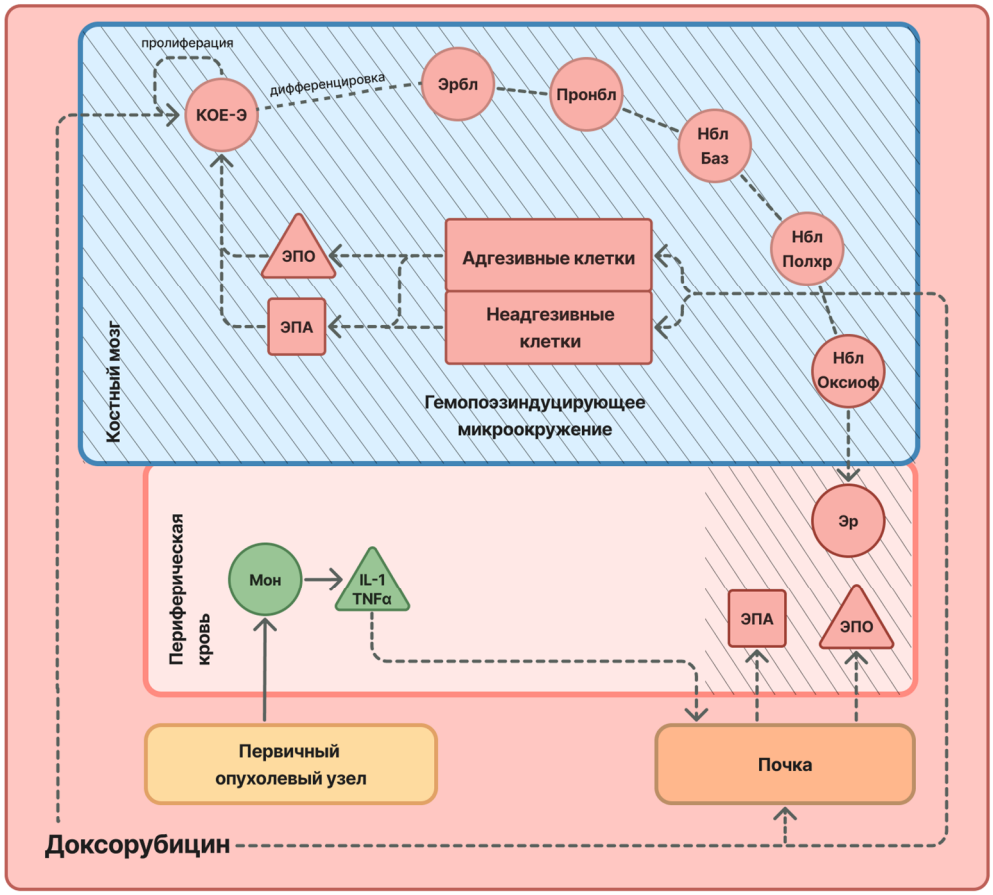

Рисунок 16 – Механизмы развития анемического синдрома, вызванного введением доксорубицина на фоне развития злокачественного новообразования (по собственным результатам и данным анализируемых литературных источников) [62, 259].

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 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 [159], 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, на протяжении всего эксперимента в костном мозге животных с карциномой легких Льюис на фоне введения доксорубицина 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 (см. таблицы 37, 44). Сравнительный анализ эффективности изучаемых растительных объектов продемонстрировал на 3 сут наблюдения более значительное повышение числа эритроидных клеток костного мозга под действием антоциансодержащего комплекса из плодов *S. aucuparia*. Так, степень увеличения количества эритробластов и базофильных нормобластов в этот срок исследования в костном мозге мышей данной группы оказалась выше (в 2,4 и 1,2 раза), чем у животных, получавших АСК А-95, однако эти значения не превышали таковых в группе референс-препарата (рисунок 17,в,г). 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 мышей, получавших АСК S-95. Следует отметить, что данные значения, нормированные по контролю, превосходили таковые у мышей, получавших рекормон (рисунок 17,в,г,д).

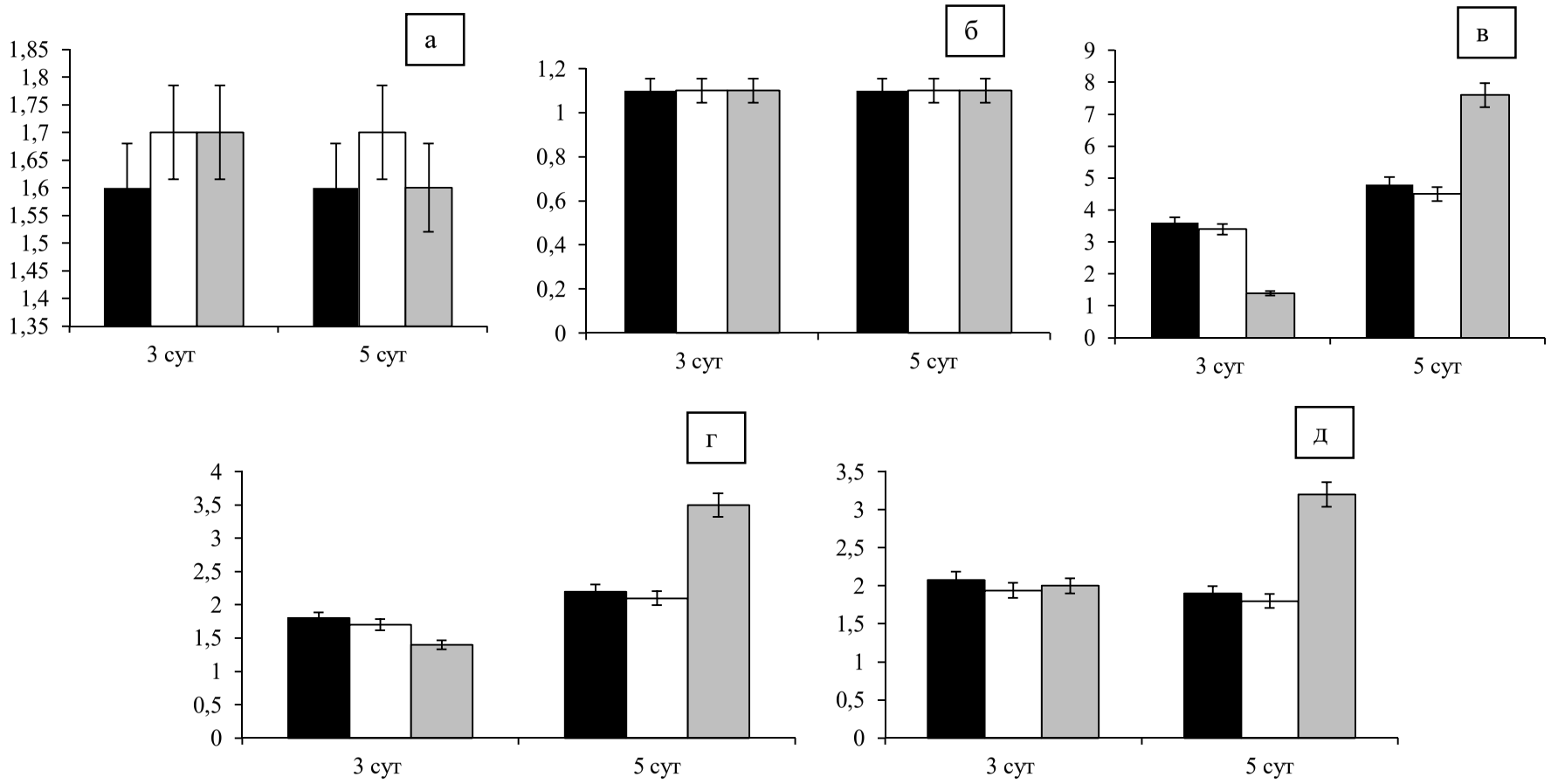

Рисунок 17 – Степень увеличения содержания ретикулоцитов (а), эритроцитов (б) в периферической крови, эритробластов (в), базофильных (г) и полихроматофильных (д) нормобластов в костном мозге мышей линии C57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис после введения им доксорубицина и рекормона (■), доксорубицина и 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

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 (см. таблицы 36, 43).

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 увеличению кратности стимуляции со стороны количества ретикулоцитов по сравнению с показателями у мышей, получавших препарат сравнения. На 5 сут значения нормированного показателя оставались выше таковых в группе животных, леченых как АСК А-95, так и рекормоном (см. рисунок 17,а). По степени увеличения содержания эритроцитов в периферической крови изучаемые группы не различались (см. рисунок 17,б).

Согласно полученным результатам, ускорение регенерации эритрона происходит за счет повышения колониеобразующей способности костного мозга. Так, на протяжении всего эксперимента, начиная с 3 сут, курсовое назначение АСК S-95 на фоне введения доксорубицина вызывало достоверное увеличение выхода КОЕ-Э относительно группы животных с LLC, получавших цитостатик, при этом отмечено, что на 10 сут значение данного показателя превосходило таковое у мышей, получавших рекормон (см. таблицу 38). Включение в схему химиотерапии АСК А-95 оказало стимулирующее действие на выход клеток–предшественников эритропоэза лишь на 5 и 7 сут после инъекции антибластомного препарата (см. таблицу 45). 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 (см. таблицы 38, 45).

При сравнительной оценке эффективности растительных комплексов и референс-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 получавших АСК А-95. Однако значения индекса стимуляции не достигали соответствующих в группе животных, получавших препарат сравнения (рисунок 18,а).

При сравнительном анализе влияния антоциансодержащих комплексов и рекормона на дифференцировку эритроидных прекурсоров отмечено, 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, которым вводили как АСК S-95, так и референс-препарат (см. рисунок 18,б).

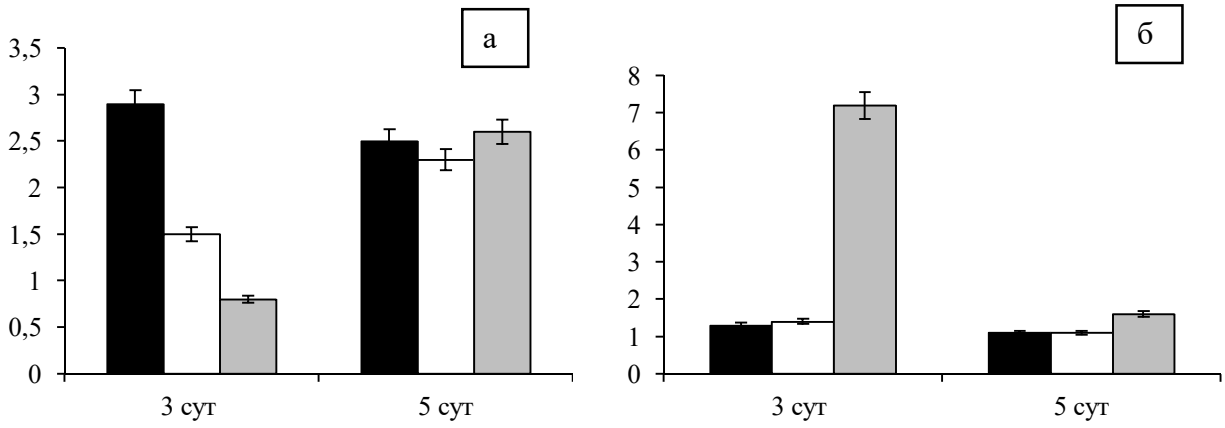

Рисунок 18 – Степень увеличения содержания КОЕ-Э (а) в костном мозге и индекса созревания (б) у мышей линии C57Bl/6 с карциномой лёгких Льюис после введения им доксорубицина и рекормона (■), доксорубицина и антоциансодержащего комплекса из плодов *S. aucuparia* L. (□), либо доксорубицина и антоциансодержащего 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 и индекс созревания, нормированные по контролю (кратность стимуляции).
Доверительные интервалы при P=0,05

На основании полученных данных можно сделать заключение о целесообразности применения антоциансодержащих комплексов из плодов

S. aucuparia и *A. melanocarpa* для коррекции нарушений в эритроне, вызванных доксорубицином 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 эритропоэтической активности (ЭПА) кондиционных сред клеток костного мозга у мышей с карциномой лёгких Льюис на фоне использования доксорубицина. Известно, что ЭПА является интегративным показателем, характеризующим наличие в супернатантах элементов ГИМ различных гуморальных факторов, обладающих эритропоэзстимулирующим действием [40]. Результаты эксперимента показали, что на 3 и 5 сут после курсового назначения АСК усиливается продукция эритропоэтической активности неприлипающими клетками костного мозга по сравнению с груп-

пой монохимиотерапии. Отмечено, что на 3 сут данный показатель в группах, получавших АСК, превосходит таковой у мышей с опухолью, получавших рекормон. При сравнительном анализе эффективности двух комплексов показано, что более выраженное действие в отношении продукции ЭПА клетками неприлипающей фракции отмечено при введении в схему химиотерапии антоциансодержащего комплекса из плодов *A. melanocarpa*.

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 комбинированное назначение АСК А-95 с доксорубицином также приводит к повышению данного показателя на 7 сут (см. таблицы 39, 46).

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 [308]. 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 [91].

В контроле эритроидного ростка кроветворения одно из центральных мест занимают макрофаги ЭО, обеспечивающие созревание эритроидных клеток от эритробласта до ретикулоцита. Эта популяция макрофагов экспрессирует молекулы адгезии сосудистых клеток – 1(VCAM–1), которые осуществляют сцепление эритробластов и макрофагов ЭО [205]. Описаны несколько функций макрофагов ЭО: секреция широкого спектра цитокинов и факторов роста, транспорт железа, фагоцитоз и кариолизис клеток–предшественников эритроцитов [201, 327, 366]. В литературе встречаются противоречивые данные о возможности синтеза этими клетками эритропоэтина, который регулирует эритропоэз. Так, Поздиной В.А. и др. [91] показана способность макрофагов секретировать данный белок. Borges M.D. et al.

[142] 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 была проведена оценка уровня эритропоэтина в адгезивной фракции клеток костного мозга, содержащей преимущественно макрофаги ЭО. Иммуноферментный анализ их супернатантов показал, что на 7 сут после введения доксорубицина под действием АСК А-95 наблюдается увеличение концентрации эритропоэтина (см. таблицу 48). На 3 и 5 сут при включении АСК S-95 в схему химиотерапии отмечен аналогичный эффект (см. таблицу 41).

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 [132]. Белками-мишенями были выбраны рецепторы, участвующие в активации элементов ГИМ, в частности, макрофагов (TLR4, CCR2, IL-4Rα, PPAR-γ, EpoR, IFN-γR).

Основную роль в модуляции функционирования макрофагов играют Toll-подобные рецепторы (TLR). Они могу распознавать широкий спектр молекулярных сигналов, ассоциированных с патогенами, а также инициируют острое воспаление посредством выработки воспалительных цитокинов [180, 322]. В последнее десятилетие Toll-подобный рецептор 4 (TLR4) признан основным рецептором распознавания паттернов, который опосредует воспаление. Так, связывание бактериального липополисахарида (LPS) с TLR4 запускает сигнальные каскады (например, NFkB- и MAPK-зависимые), которые активируют синтез провоспалительных цитокинов (TNFα, IL-1β, IL-6, IL-12) и интерферонов I типа, необходимых для распространения воспалительного ответа, что, в конечном итоге, приводит к уничтожению патогена [180]. В основном этот рецептор находится на поверхности иммунных клеток (моноциты, макрофаги, дендритные клетки). В меньшей степени TLR4 экспрессиру-

ется на некоторых неиммуных клетках (эпителиальные и эндотелиальные клетки, фибробласты, бета-клетки островков Лангерганса, плацентарные клетки) [363].

CCR2 (рецептор C-C-хемокинов 2) – рецептор β-хемокинов млекопитающих класса интегральных мембранных белков, который экспрессируется на макрофагах (M2a) и моноцитах. Ключевой ролью этого рецептора является участие в хемотаксисе моноцитов по направлению к очагам воспаления под действием хемокина CCL2 (MCP-1) [359]. Таким образом, CCR2 является важным участником иммунных реакций, особенно процессов воспаления и рекрутирования иммунных клеток.

IL-4Rα – рецептор к IL–4, который экспрессируется на Т-лимфоцитах, В-лимфоцитах, эозинофилах, базофилах, эндотелиоцитах, фибробластах, дендритных клетках [11]. Также при фенотипировании макрофагов и моноцитов на поверхности этих клеток обнаружен IL-4Rα [242], активация которого приводит к формированию фенотипа M2.

PPAR-γ – рецептор γ, активируемый пролифератором пероксисом, является членом суперсемейства ядерных рецепторов и также поляризует макрофаги в противовоспалительное состояние M2 [352].

EpoR – рецептор к эритропоэтину. Известно, что данный рецептор в основном экспрессируется на поверхности клеток-предшественников эритропоэза, эритробластах и базофильных нормобластах. Активация EpoR приводит к повышению их функциональной активности и стимуляции эритроидного ростка кроветворения [270]. Имеются доказательства, что EpoR экспрессируется на неэритроидных клетках, таких как макрофаги [337].

IFN-γR – рецептор к интерферону гамма (IFN-γ), который в основном экспрессируется на поверхности макрофагов. Активация данного рецептора приводит к запуску IRF/STAT-канонических путей передачи сигналов, что приводит к M1-поляризации [113].

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 (см. рисунок 4). Во вторую группу – рецептор CCR2, который показал надежное связывание с молекулой лигандом. Самой высокой аффинностью к цианидину обладает TLR4 (см. рисунки 3, 4). При расчете среднеквадратичного отклонения между положениями атомов лиганда в расчетной и экспериментальной структурах показано, что рецептор к эритропоэтину не связывается с изучаемым лигандом (см. рисунок 4).

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 (см. рисунок 18).

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 18).

Известно, что помимо макрофагов в структуру ГИМ входят различные элементы: эндотелиальные клетки, фибробласты, адипоциты, остеобласты, лимфоциты, эозинофилы, базофилы и другие [40]. Данные литературы свидетельствуют о том, что активированные антоцианами макрофаги синтезируют различные гуморальные факторы. Так, они могут продуцировать bFGF (основной фактор роста фибробластов), PDGF-BB (тромбоцитарный фактор роста – BB), IL-1, TNFα (фактор некроза опухоли α) [40, 339], которые играют важную роль в активации Т-лимфоцитов, фибробластов. В свою очередь стимулированные элементы микроокружения синтезируют различные факто-

ры, такие, как ГМ-КСФ (гранулоцитарно-макрофагальный фактор), IL-3, IL-9, обладающие эритропоэтической активностью [40]. С этим согласуются результаты наших экспериментов по оценке ЭПА кондиционных сред клеток костного мозга у мышей с карциномой легких Льюис (см. таблицы 39, 46).

Кроме того фибробласты, входящие в ГИМ, также экспрессируют на своей поверхности рецепторы TLR4 [363], IL-4Rα [125], PPAR-γ [229]. На мембране адипоцитов расположены TLR4 [247], IL-4Rα [162], PPAR-γ [225], IFN-γR [138]. Многими авторами при фенотипировании Т-лимфоцитов выявлено наличие на поверхности этих клеток следующих рецепторов: CCR2 [177], IL-4Rα [295], PPAR-γ [273], IFN-γR [235]. Следовательно, еще одним возможным механизмом локального контроля может быть прямое взаимодействие антоцианов с белковыми рецепторами, экспрессирующимися на поверхности элементов микроокружения, например, фибробластов, Т-лимфоцитов, адипоцитов, что приводит к увеличению продукции эритропоэзстимулирующих факторов этими клетками, входящими в ГИМ (рисунок 19).

Для подтверждения нашей гипотезы был поставлен эксперимент *in vitro*, где показано, что активация функционирования клеток гемопоэзиндуцирующего микроокружения связана с прямым действием антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* на эти элементы. Следует отметить, что повышение уровней ЭПА как в адгезивной, так и неадгезивной 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 (см. таблицу 51).

В целом, результаты представленных исследований свидетельствуют о том, что в стимуляцию функционирования эритроидных клеток-предшественников антоциансодержащими комплексами из плодов *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.

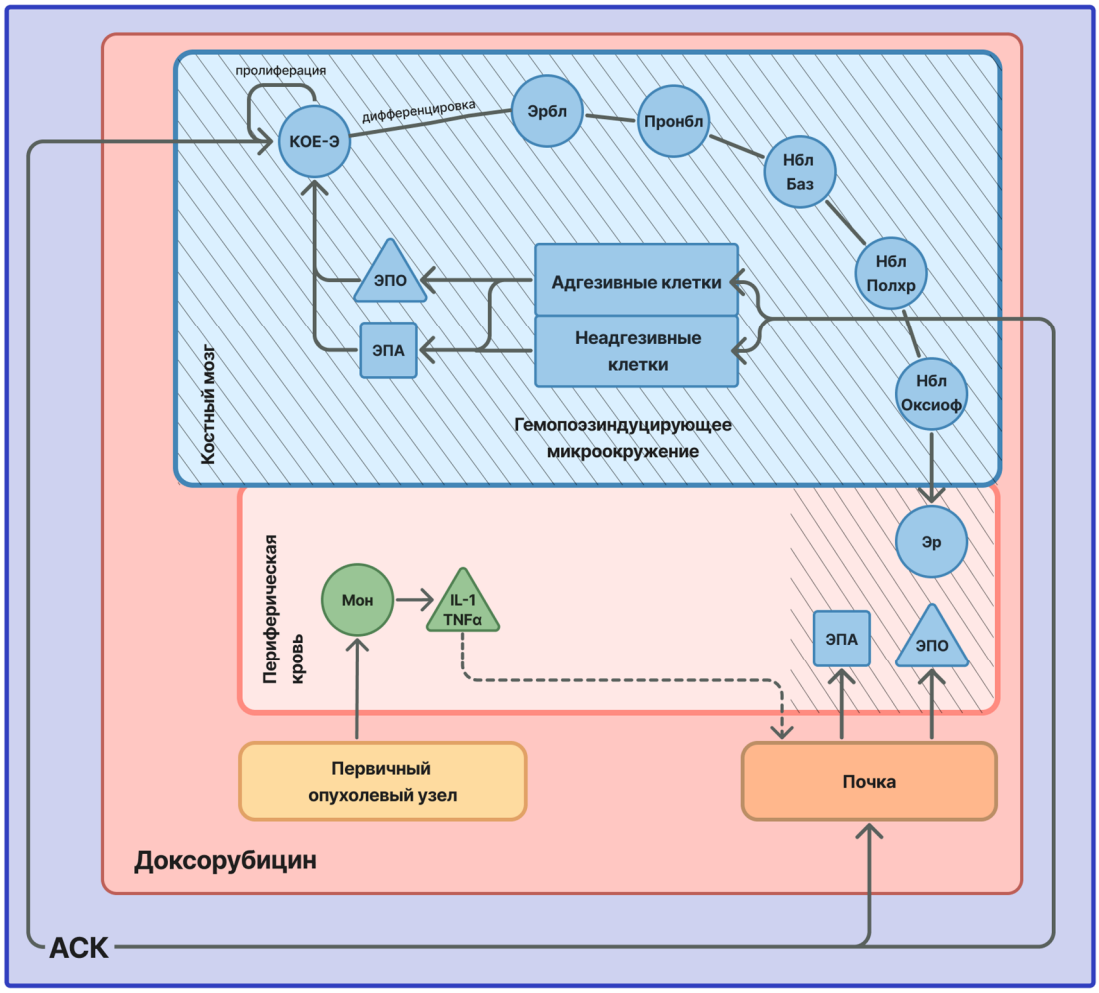

Рисунок 19 – Механизмы регенерации эритроидного ростка кроветворения с помощью антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* L. и *A. melanocarpa* (Michx.) Elliott., угнетенного введением доксорубицина, на фоне развития злокачественного новообразования (по собственным результатам и данным анализируемых литературных источников) [62, 259].

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

При изучении роли гуморальных регуляторов в дистантном контроле эритропоэза установлено, что во все сроки эксперимента комбинированное использование антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* с доксорубицином 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 таковой в группе с включением в схему химиотерапии референс-препарата (см. таблицы 40, 47). 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 (см. таблицы 42, 49). Также следует отметить, что только при включении в схему химиотерапии АСК S-95 наблюдалось увеличение концентрации ЭПО 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 мышей, которым вводили референс-препарат.

Таким образом, дистантный механизм регуляции эритроидного ростка кроветворения активируется под действием антоциансодержащих комплексов за счет их влияния на продукцию гуморальных факторов, действующих на эритропоэз, в частности, эритропоэтина. 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 антоциансодержащего комплекса из плодов *S. aucuparia* совместно с доксорубицином.

Другим механизмом эритропоэзстимулирующего действия антоциансодержащих комплексов из плодов *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 (см. таблицу 50). Известно, что на поверхности КОЕ-Э находятся лишь рецепторы к эритропоэтину (EpoR) [366]. Согласно данным молекулярного докинга, антоцианы могут взаимодействовать с данным рецептором, однако их сродство незначительно.

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 [77]. В настоящем исследовании были поставлены эксперименты, посвященные изучению влияния антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* на индуцированную доксорубицином генотоксичность в костном мозге животных как с карциномой лёгких Льюис, 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* [39]. С целью выявления 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 (см. таблицу 52, рисунок 9,б,в).

Напротив, через 24 ч после введения доксорубицина в дозе 6 мг/кг в костном мозге обнаружено увеличение числа клеток с хромосомными повреждениями по сравнению с соответствующими показателями 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 (см. таблицу 52, рисунок 9,г).

Аналогичные результаты получены при изучении токсического действия доксорубицина на ДНК клеток костного мозга методом ДНК-комет. Так, через 24, 48 ч и 10 сут после введения противоопухолевого препарата выявлено увеличение процента ДНК в хвосте кометы (см. таблицу 53, рисунок 10,б).

Полученные результаты согласуются с данными литературы. Показано, что антрациклиновый антибиотик способен вызвать нарушения в структуре ДНК посредством ингибиции топоизомеразы II, а также активации окислительного стресса [234]. 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 [39]. В проведенных экспериментах показано, что включение в схему химиотерапии антоциансодержащих комплексов приводит к ослаблению генотоксического действия доксорубицина. Этот эффект выявлялся через 24 ч после использования цитостатика и сохранялся в течение всего эксперимента (см. таблицы 52, 53, рисунок 9,д,е, 10,в,г). При сравнительном анализе генозащитного действия антоциансодержащих комплексов из *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* установлено, что наиболее выраженным генопротекторным свойством обладает АСК из *S. aucuparia*.

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 карциномой легких Льюис 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. На 21 сут после трансплантации опухоли количество хромосомных аномалий и частота встречаемости клеток с аберрациями повышалась в 1,7 раза (см. таблицу 54, рисунок 11,б). Аналогичные результаты были получены при оценке влияния опухоли на процент ДНК в хвосте кометы (см. таблицу 55, рисунок 12,б).

Наблюдаемый факт может быть связан с тем, что развитие злокачественных новообразований сопровождается окислительным стрессом с интенсивной продукцией активных форм кислорода, обладающих генотоксическим действием [263].

Уровень повреждения хромосом ожидаемо повышался после однократного введения мышам с LLC доксорубицина. Генотоксическое действие противоопухолевого агента на фоне развития опухоли было отмечено через 24 ч и сохранилось к 10 сут после его использования (см. таблицы 54, 55; рисунок 11,в, 12,в).

Включение в схему химиотерапии АСК S-95 спустя 24 ч после применения антрациклинового антибиотика 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. 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 доксорубицин (см. таблицы 54, 55; рисунок 11,г, 12,г).

Комбинированное использование АСК А-95 совместно с доксорубицином также оказало генопротекторное действие, однако обнаруженный в ран-

ние сроки наблюдения корректорный эффект в этой группе был менее выражен, чем у животных, принимавших АСК S-95 на фоне цитостатической терапии (см. таблицы 54, 55; рисунок 11,д, 12,д).

Следует сослаться на данные исследователей, которые указывают на важную роль окислительного стресса в патогенезе многих заболеваний, в частности, злокачественных новообразований [164, 347]. Основу феномена окислительного стресса, который является одним из патогенетических звеньев мутагенеза, составляет гиперпродукция свободных радикалов [82]. Известно, что активные формы кислорода (АФК), генерируемые в различных модельных системах, способны повреждать ДНК. Большинство авторов приписывают эту способность гидроксильному радикалу, другие допускают, что аналогичными свойствами может обладать супероксидный анион (радикал) и/или вторичные радикалы, возникающие в результате взаимодействия гидроксильного радикала с низкомолекулярными эндогенными соединениями [37].

Система антиоксидатной защиты является основным фактором, который защищает клетки от избыточного содержания активных форм кислорода [21]. В настоящее время выделяют две обширные группы антиоксидантов. В первую входят антиоксиданты эндогенного происхождения: супероксиддисмутаза (SOD), каталаза (CAT), глутатионпероксидаза (GPX), глутатион и другие. Вторая группа антиоксидантов отвечает за захват свободных радикалов и, таким образом, предотвращает цепные окислительные реакции. Эта группа в основном состоит из экзогенных антиоксидантов (альбумина, витаминов С и Е, каротиноидов и флавоноидов (полифенолы)) [257, 302, 309].

Большое значение в механизме антиоксидантного действия флавоноидов имеет хелатирование металлов переменной валентности. Флавоноиды легко связывают ионы таких переходных металлов, как железо и медь, которые, инициируя перекисное окисление липидов, способствуют образованию свободных радикалов. Именно хелатирование металлов является наиболее

эффективным путем подавления процессов перекисного окисления флавоноидами [111].

Яркими природными антиоксидантами из группы полифенолов являются антоцианы, которые по своей активности не уступают известным антиоксидантам, таким как α-токоферол, тролокс и катехин [355]. Антиоксидантные свойства антоцианов обусловлены их структурными особенностями: числом гидроксильных групп, наличием катехинового фрагмента в В-кольце и иона оксония в С-кольце, паттерном гидроксилирования, метилирования, ацилирования и гликозилирования [340, 341]. Среди антоциановых агликонов наибольшую антиоксидантную активность проявляют дельфинидин и цианидин, за которыми в порядке уменьшения следуют мальвидин, пеонидин, пеларгонидин и петунидин [236]. Антоцианы могут гасить активные радикалы за счёт реакции переноса одного электрона и отрыва атома водорода от фенольных групп [356]. Другим механизмом реализации их антиоксидантных свойств может быть модуляция антиоксидантной защитной системы организма [304, 305, 317, 329].

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, а также с прямым стимулирующим действием 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–предшественников эритроидного ряда в костном мозге.

Опираясь на данные литературы, свидетельствующие о том, что развитие анемии может усугублять развитие злокачественных новообразований, следует рекомендовать включение в схему химиотерапии антоциансодержащих комплексов, обладающих выраженным эритропоэзстимулирующим действием, с целью снижения гематотоксичности и повышения эффективности цитостатической терапии.

Учитывая наличие богатой сырьевой базы в России для получения антоциансодержащих комплексов из плодов *S. aucuparia* и *A. melanocarpa* и а также производственных мощностей фармацевтического профиля, полученные в работе данные могут служить основанием для создания на их основе

новых средств для использования в комплексной терапии злокачественных новообразований повышающих противоопухолевую и антиметастатическую активность цитостатиков, 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 легких Льюис, рак легкого-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 эритро-

поэзстимулирующий 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 кондиционых 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 миелосупресии 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.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Akt – протеинкиназа B

AP-1 – активаторный фактор

Bax – проапоптотический белок митохондриального пути активации апоптоза

Bcl-2 – антиапоптотический белок

bFGF – основной фактор роста фибробластов

CAT – каталаза

CCR2 – рецептор C-C-хемокинов 2

CD – cluster designation

CDK – циклинзависимые киназы

CTLA4 – cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4 immunoglobulin

ECAS – European Cancer Anaemia Survey

EGF – эпидермальный фактор роста

EGFR – epidermal growth factor receptor

EpoR – рецептор к эритропоэтину

ERK – внеклеточная сигнально-регулируемая киназа

G_0 – фаза покоя клеточного цикла

G_1 – предсинтетическая фаза клеточного цикла

G_2 – постсинтетическая фаза клеточного цикла

GSH-px – глутатионпероксидаза

HER-2 – human epidermal growth factor receptor 2

HIF – фактор, индуцируемый гипоксией

IFNγ – интерферон γ

IFN-γR – рецептор к интерферону гамма

IKK – киназа IκBα

IL – интерлейкин

IL-4Rα – рецептор к IL–4

JNK – c-Jun NH2-концевая киназа

LD_{50} – доза, вызывающая 50% гибели животных

LLC – карцинома легких Льюис

LPS – липополисахарид

MCP-1 – Monocyte Chemoattractant Protein 1

mTOR – mechanistic Target Of Rapamycin

NCCN – National Comprehensive Cancer Network

NF-kβ – ядерный фактор

P38-MAPK – митоген-активируемая протеинкиназа p38

PD-1 – programmed cell death 1

PDGF-BB – тромбоцитарный фактор роста – BB

PDK1 – фосфоинозитид-зависимой киназы 1

PI3K – фосфоинозитид-3-киназы

PKC – протеинкиназа C

PPAR-γ – рецептор γ, активируемый пролифератором пероксисом

S – синтетическая фаза клеточного цикла

SOD – супероксиддисмутаза

STAT3 – сигнальный белок и активатор транскрипции 3

TLR4 – toll-подобный рецептор 4

TNFα – фактор некроза опухолей α

VCAM-1 – молекулы адгезии сосудистых клеток – 1

VEGF – vascular endothelial growth factor

VEGFR – рецептор фактора роста эндотелия сосудов

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 А-95 – антоциансодержащий комплекс из плодов *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott., приготовленный на 95% этаноле

АФК – активные формы кислорода

БАВ – биологически активные вещества

БХ – хроматография на бумаге

В-16 – меланома В-16

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГИМ – гемопоэзиндуцирующее микроокружение

ГСК – гемопоэтические стволовые клетки

ДМЕМ-LG – Dulbecco′s Modified Eagle′s Medium, содержащая глутамин

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЕС – Европейского Союз

ИИМ – индекс ингибирования метастазирования, %

ИКТ – иммунные контрольные точки

КлОЕ-Э – эритроидная кластерообразующая единица

КОЕ-Э – эритроидная колониеобразующая единица

М – митоз

М1 – мейоз 1

МКБ-10 – Международная классификация болезней

ММР-2/9 – матриксные металлопротеиназы 2/9

МПД – максимально переносимая доза

мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота

мРНК – ММР – матричная РНК матриксной металлопротеиназы

ОКК – общее количество кариоцитов

ОКЛ – общее количество лейкоцитов

ОФ – одиночные фрагменты

ПОЛ – перекисное окисление липидов

РЛ-67 – рак легкого-67

РМЖ – рак молочной железы

рчЭПО – рекомбинантный человеческий эритропоэтин

СРО – свободнорадикальное окисление

ТРО – торможение роста опухоли, %

ТСХ – хроматография в тонком слое сорбента

Цитохром Р450 – цитохром Р450-зависимая монооксигеназа

ЦФ – циклофосфан

ЧМ – частота метастазирования

ЭО – эритробластические островки

ЭПА – эритропоэтическая активность

ЭПО – эритропоэтин

ЭТС – эмбриональная телячья сыворотка

ЭШБ – экстракт шлемника байкальского

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андреева, В. Ю. Методика определения антоцианов в плодах аронии черноплодной / В. Ю. Андреева, Г. И. Калинкина, Н. Э. Коломиец [и др.] // Фармация. – 2013. – № 3. – С. 19–21.

2. Артамонова, Е. В. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний / Е. В. Артамонова [и др.]. – М. : Издательский дом «Практическая медицина», 2018. – 688 с.

3. Архипов, С. А. Изменение интенсивности метастазирования в легкие перевиваемых опухолей мышей в зависимости от величины перевивочной дозы опухолевых клеток / С. А. Архипов, В. М. Юнкер, Е. В. Грунтенко // Исследование по индукции и метастазированию опухолей у экспериментальных животных. – Новосибирск, 1984. – С. 14–32.

4. Баврина, А. П. Современные правила использования методов описательной статистики в медико-биологических исследованиях / А. П. Баврина // Медицинский альманах. – 2020. – № 2 (63). – С. 95–105.

5. Баврина, А. П. Современные правила применения параметрических и непараметрических критериев в статистическом анализе медико-биологических данных / А. П. Баврина // Медицинский альманах. – 2021. – № 1 (66). – С. 64–73.

6. Безбородова, О. А. Противоопухолевые лекарственные препараты: планирование доклинических исследований по оценке эффективности и безопасности / О. А. Безбородова, А. А. Панкратов, Е. Р. Немцова [и др.] // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2020. – Т. 10, № 2. – С. 96–110. – DOI https://doi.org/10.30895/1991-2919-2020-10-2-96-110.

7. Бейлерли, О. А. Микро-РНК как биомаркеры и терапевтические мишени при медуллобластомах / О. А. Бейлерли, И. Ф. Гареев, А. Б. Алышов, В. В. Кудряшов // Креативная хирургия и онкология. – 2020. – Т. 10, № 4. – С. 311–318. – DOI https://doi.org/10.24060/2076-3093-2020-10-4-311-318.

8. Белицкий, Г. А. Химический канцерогенез и первичная профилактика рака : научное издание / Г. А. Белицкий, К. И. Кирсанов, Е. А. Лесовая [и др.]. – М. : АБВ-пресс, 2020б. – 491 с.

9. Белицкий, Г. А. Лекарственный канцерогенез: факторы риска и возможности предотвращения / Г. А. Белицкий, К. И. Кирсанов, Е. А. Лесовая, М. Г. Якубовская // Успехи биологической химии. – 2020а. – Т. 60. – С. 173–226.

10. Бережная, Н. М. Иммунология злокачественного роста / Н. М. Бережная, В. Ф. Чехун. – Киев : Наукова думка, 2005. – 790 с.

11. Бойцова, Е. А. Интерлейкин 4. Биологические функции и клиническое значение в развитии аллергии (научный обзор) / Е. А. Бойцова, Г. О. Азимуродова, Т. В. Косенкова // Профилактическая и клиническая медицина. – 2020. – № 2 (75). – С. 70–79.

12. Бойчук, С. В. PML-зависимые механизмы репарации повреждений ДНК: перспективы создания нового метода лабораторной диагностики для оценки химио- и радиочувствительности злокачественных новообразований / С. В. Бойчук, О. Джоерап // Практическая медицина. – 2014. – № 3 (79). – С. 7–11.

13. Боровская, Т. Г. Экспериментальная оценка отдаленных последствий токсического действия цитостатических препаратов на мужскую репродуктивную функцию / Т. Г. Боровская, В. Е. Гольдберг, М. Е. Полуэктова [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2020. – Т. 19, № 1. – С. 64–72. – DOI https://doi.org/10.21294/1814-4861-2020-19-1-64-72.

14. Боровская, Т. Г. Состояние потомства крыс-самцов, получавших ингибиторы топоизомеразной активности / Т. Г. Боровская, Ю. Ф. Щемерова, В. Е. Гольдберг // Сибирский онкологический журнал. – 2006. – № 4. – С. 33–36.

15. Боровская, Т. Г. Фармакологическая коррекция патологических изменений у жизнеспособного потомства крыс, вызванных цитостатическим воздействием на стадии прогенеза / Т. Г. Боровская, М. Е. Полуэктова,

А. В. Вычужанина, Ю. А. Щемерова, В. Е. Гольдберг // Сибирский онкологический журнал. – 2019. – Т. 18, № 1. – С. 79–85.

16. Валиев, Т. Т. Токсические эффекты препаратов L-аспарагиназы при лечении острого лимфобластного лейкоза / Т. Т. Валиев // Онкогематология. – 2023. – Т. 18, № 3. – С. 134–139. – DOI https://doi.org/10.17650/1818-8346-2023-18-3-134-139.

17. Варламова, О. Н. Эритропоэтин и его биологическая роль / О. Н. Варламова, О. Д. Червяковская // Медицина: теория и практика. – 2019. – Т. 4, № 3. – С. 61–69.

18. Виноградова, Ю. К. Арония Мичурина: от создания до натурализации / Ю. К. Виноградова, А. Г. Куклина. – М. : ГЕОС, 2014. – 137 с. – ISBN 978-5-89118-641-2.

19. Войнов, В. А. Эфферентная терапия. Мембранный плазмаферез: издание пятое, переработанное и дополненное / В. А. Войнов. – М. : ОАО «Издательство "Новости"», 2010. – 368 с. – ISBN 978-5-00000-000-0.

20. Вышковский, Г. Л. Антиметаболиты. Описание фармакологической группы // Регистр лекарственных средств России. – М.: РЛС-МЕДИА, 2007. – 224 с.

21. Гаврилова, О. А. Особенности процесса перекисного окисления липидов в норме и при некоторых патологических состояниях у детей (обзор литературы) / О. А. Гаврилова // Acta Biomedica Scientifica. – 2017. – Т. 2, № 4 (116). – С. 15–22.

22. Гольдберг, Е. Д. Отдаленные эффекты токсического действия цитостатических препаратов на репродуктивную систему / Е. Д. Гольдберг, Т. Г. Боровская // Сибирский научный медицинский журнал. – 2004. – № 2. – С. 32–36.

23. Гольдберг, Е. Д. Препараты из растений в комплексной терапии злокачественных новообразований / Е. Д. Гольдберг, Е. П. Зуева. – Томск, 2000. – 130 с.

24. Гольдберг, Е. Д. Растения в комплексной терапии опухолей / Е. Д. Гольдберг, Т. Г. Разина, Е. П. Зуева [и др.]. – М. : Издательство РАМН, 2008. – 232 с.

25. Гольдберг, Е. Д. Методы культуры ткани в гематологии / Е. Д. Гольдберг, А. М. Дыгай, В. П. Шахов. – Томск: Изд-во Том. ун-та, 1992. – 264 с.

26. Гольдберг, Е. Д. Роль гемопоэзиндуцирующего микроокружения в регуляции кроветворения при цитостатических миелосупрессиях / Е. Д. Гольдберг, А. М. Дыгай, В. В. Жданов. – Томск : STT, 1999. – 128 с.

27. Городецкий, В. М. Особенности заместительной терапии в онкологии / В. М. Городецкий // Очерки по производственной и клинической трансфузиологии. – 2006. – С. 455.

28. Государственная фармакопея Российской Федерации / Министерство здравоохранения Российской Федерации. – XIV изд. – М., 2018. – Т. 1. – (ФС.2.5.0093.18).

29. Государственная фармакопея Российской Федерации / Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации. – XII изд. М. : Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2007. Ч. 1. – 684 с.

30. Государственная фармакопея Российской Федерации. / Министерство здравоохранения Российской Федерации. – XIII изд. – М., 2015. – Т. 3 – 1294 с.

31. Государственная фармакопея Российской Федерации / Министерство здравоохранения Российской Федерации. – XIV изд. – М., 2018. – Т. 2. – 1294 с.

32. Государственный реестр лекарственных средств / Министерство здравоохранения Российской Федерации, Фонд фармацевтической информации. – М., 2013. – Т. 1. – 1294 с.

33. Государственный реестр лекарственных средств / Министерство здравоохранения Российской Федерации, Фонд фармацевтической информации. – М., 2016. – Т. 1. – 1365 с.

34. Дажина, С. А. Современные подходы к коррекции анемического синдрома в онкологии / С. А. Дажина, Д. Д. Сакаева, Ф. Ф. Муфазалов // Медицинский вестник Башкортостана. – 2007. – № 3–4. – С. 15–26.

35. Данилов, А. И. Особенности таргетной терапии в онкологической практике / А. И. Данилов, М. Д. Сливкин, А. В. Евсеев [и др.] // Вестн. Смоленской гос. мед. акад. – 2021. – Т. 20, № 4. – С. 25–29.

36. Долгова, Е. В. Патологические изменения, возникающие в организме мышей, обработанных сочетанием циклофосфана и экзогенной ДНК / Е. В. Долгова, В. П. Николин, Н. А. Попова [и др.] // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2013. – Т. 17, № 1. – С. 129–146.

37. Донцов, В. И. Активные формы кислорода как система: значение в физиологии, патологии и естественном старении / В. И. Донцов, В. Н. Крутько, Б. М. Мрикаев, С. В. Уханов // Информатика здоровья и долголетия : сб. тр. ИСА РАН / ред. В. Н. Крутько. – М.: УРСС, 2006. – Т. 19. – С. 85–96.

38. Дурнев, А. Д. Актуальные аспекты генетической токсикологии лекарственных средств / А. Д. Дурнев, А. К. Жанатаев // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. – 2022а. – Т. 12, № 1. – С. 90–109.

39. Дурнев, А. Д. Генетическая токсикология / А. Д. Дурнев, А. К. Жанатаев, Н. В. Еремина. – М., 2022б. – 286 с. – ISBN 978-5-00000-000-0.

40. Дыгай, А. М. Теория регуляции кроветворения / А. М. Дыгай, В. В. Жданов. – М. : Изд-во РАМН, 2012. – 140 с.

41. Дыгай, А. М. Фармакологическая регуляция эритропоэза / А. М. Дыгай, В. В. Жданов, Е. В. Удут. – М. : Изд-во РАМН, 2009. – 176 с.

42. Жуйкова, Л. Д. Распространённость онкологических заболеваний среди населения региона Сибири и Дальнего Востока / Л. Д. Жуйкова,

Е. Л. Чойнзонов, О. А. Ананина [и др.] // Здравоохранение Российской Федерации. – 2023. – Т. 67, № 1. – С. 64–71. – DOI https://doi.org/10.47470/0044-197X-2023-67-1-64-71.

43. Зверев, Я. Ф. Противоопухолевая активность флавоноидов / Я. Ф. Зверев // Бюллетень сибирской медицины. – 2019. – Т. 18, № 2. – С. 181–194. – DOI https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-2-181-194.

44. Зельчан, Р. В. Изучение диагностической эффективности однофотонной эмиссионной компьютерной томографии с новым радиофармацевтическим лекарственным препаратом [99MTC)TC-1-ТИО-D-ГЛЮКОЗА в визуализации опухолей головного мозга / Р. В. Зельчан, А. А. Медведева, О. Д. Брагина [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2022. – Т. 21, № 5. – С. 24.

45. Исайкина, Н. В. Рябина обыкновенная: определение антоцианов в плодах / Н. В. Исайкина, Г. И. Калинкина, В. Ю. Андреева [и др.] // Фармация. – 2015. – № 1. – С. 19–21.

46. Камлык, Д. В. Исследование противоопухолевой активности трополона JO-122(2) на подкожных CDX-моделях рака / Д. В. Камлык, Д. В. Ходакова, А. С. Гончарова [и др.] // Research'n Practical Medicine Journal. – 2025. – Т. 12, № 3. – С. 53–60. – DOI https://doi.org/10.17709/2410-1893-2025-12-3-5.

47. Каприн, А. Д. Состояние онкологической помощи населению России в 2021 году / А. Д. Каприн, В. В. Старинский, А. О. Шахзадова [и др.]. – М., 2022. – [б. с.].

48. Кобилов, О. Р. Обоснование и принципы коррекции гематологической токсичности полихимиотерапии злокачественных опухолей (обзор литературы) / О. Р. Кобилов // Вестн. науки и образования. – 2019. – Т. 17, № 71. – С. 68–72.

49. Коваленко, Е. И. Эффективность неоадъювантной гормонотерапии в сравнении с химиотерапией при РЭ+HER2-негативном раке молочной железы у пациенток в постменопаузе: предварительные результаты одноцентрового когортного исследования / Е. И. Коваленко, Т. А. Титова, Я. А. Жу-

ликов [и др.] // Вопросы онкологии. – 2025. – Т. 71, № 3. – С. 558–566. – DOI https://doi.org/10.37469/0507-3758-2025-71-3-OF-2304.

50. Коломиец, Н. Э. Стандартизация листьев крапивы / Н. Э. Коломиец, Г. И. Калинкина, Н. Н. Сапронова // Фармация. – 2011. – № 6. – С. 22–24.

51. Комина, А. В. МикроРНК и малые интерферирующие РНК как инструменты направленной регуляции клеточных процессов для терапии онкологических заболеваний / А. В. Комина, С. Н. Лаврентьев, Т. Г. Рукша // Бюллетень сибирской медицины. – 2020. – Т. 19, № 1. – С. 160–171.

52. Кондратьева, О. Е. Роль эритропоэтинов в лечении онкологических больных / О. Е. Кондратьева, М. Е. Абрамов, Г. В. Вышинская [и др.] // Медицинский совет. – 2018. – № 10. – С. 134–139.

53. Кононенко, И. Б. Нейтропения, лимитирующая проведение химиотерапии. Нужна ли профилактика? / И. Б. Кононенко, А. В. Снеговой, В. Б. Ларионова // Онкогематология. – 2022. – Т. 17, № 1. – С. 135–142. – DOI https://doi.org/10.17650/1818-8346-2022-17-1-135-142.

54. Кононенко, И. Б. Влияние терапии эритропоэзстимулирующими препаратами на выживаемость пациентов с анемией при метастатических злокачественных новообразованиях (систематический обзор и метаанализ) / И. Б. Кононенко, А. В. Снеговой // Опухоли головы и шеи. – 2025. – Т. 15, № 3. – С. 12–24. – DOI https://doi.org/10.17650/2222-1468-2025-15-3-12-24.

55. Корман, Д. Б. Мишени и механизмы действия противоопухолевых препаратов / Д. Б. Корман. – М : Практическая медицина, 2014. – 516 с.

56. Корман, Д. Б. Основы противоопухолевой химиотерапии / Д. Б. Корман. – М : Практическая медицина, 2006. – 512 с.

57. Королева, И. А. Анемия и тромбоцитопения, индуцированные противоопухолевой терапией / И. А. Королева // Практическая онкология. – 2023. – Т. 24, № 3. – С. 228–235.

58. Красникова, Е. В. Разработка технологии натурального пищевого красителя из аронии черноплодной с использованием искусственного холода:

дис. … канд. техн. наук: 05.18.01 / Красникова Елена Владимировна. – СПб., 2003. – 148 с.

59. Круглов, Д. С. Лекарственные средства, применяемые для профилактики и лечения железодефицитных состояний / Д. С. Круглов // Научное обозрение. Медицинские науки. – 2017. – № 4. – С. 26–41.

60. Крысанов, И. С. Фармакоэкономический анализ терапии анемии у онкологических больных в условиях реальной клинической практики РФ / И. С. Крысанов, В. С. Крысанова, В. Ю. Ермакова // Качественная клиническая практика. – 2018. – № 4. – С. 4–12. – DOI https://doi.org/10.24411/2588-0519-2018-10054.

61. Кулибаба, Т. Г. Особенности анемического синдрома у онкологических пациентов / Т. Г. Кулибаба, И. Ю. Пчелин, Л. А. Слепых // Juvenis scientia. – 2018. – № 9. – С. 10–16.

62. Куркина, Н. В. Анемия хронических заболеваний / Н. В. Куркина, Е. И. Горшенина, Л. В. Чегодаева, А. В. Полагимова // Клиническая онкогематология. – 2021. – Т. 14, № 3. – С. 347–354. – DOI https://doi.org/10.21320/2500-2139-2021-14-3-347-354.

63. Лалетин, В. С. Влияние противоопухолевых препаратов различных групп на систему глутатиона и возможные методы ее коррекции: автореф. дис. … канд. мед. наук : 03.01.04 / Лалетин Всеволод Сергеевич. – Новосибирск, 2011. – 22 с.

64. Ларионова, В. Б. Рациональная тактика поддерживающей терапии анемии, индуцированной химиотерапией: фармако-экономический анализ применения эритропоэз-стимулирующих препаратов у пациентов с онкологическими заболеваниями в условиях здравоохранения Российской Федерации / В. Б. Ларионова, И. С. Крысанов, А. В. Снеговой [и др.] // Онкогематология. – 2018. – Т. 13, № 2. – С. 48–61.

65. Логвинова, Е. Е. Сравнительный анализ мембраностабилизирующего действия препаратов плодов рябины черноплодной / Е. Е. Логвинова,

Т. А. Брежнева, А. И. Сливкин [и др.] // Вестн. ВГУ, Сер. Химия, Биология, Фармация. – 2015. – № 4. – С. 126–129.

66. Лопатина, К. А. Водорастворимые полисахариды растений Сибири в комплексной терапии перевиваемых опухолей: автореф. дис. … канд. мед. наук: 14.00.25 / Лопатина Ксения Александровна. – Томск, 2007. – 22 с.

67. Лыков, А. П. Влияние эритропоэтина на продукцию цитокинов стволовыми клетками / А. П. Лыков, М. А. Суровцева, О. В. Повещенко [и др.] // Медицинская иммунология. – 2019. – Т. 21, № 5. – С. 861–868.

68. Льюис, С. М. Практическая и лабораторная гематология / С. М. Льюис, Б. Бэйн, И. Быйтс. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 670 с.

69. Мазнев, Н. И. Лекарственные растения: 15000 наименований лекарственных растений, сборов и рецептов. Описание, свойства, применение, противопоказания / Н. И. Мазнев. – М. : Дом. XXI век, 2006. – 1056 с.

70. Машковский, М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковский. – 16-е изд. – М. : РИА «Новая волна», 2024. – 718 с.

71. Минаева, Л. В. Экспериментальная оценка роли изменений системы глутатиона в реализации побочных цитотоксических эффектов повторного введения циклофосфана: автореф. дис. … канд. мед. наук: 14.00.25 / Минаева Людмила Викторовна. – СПб., 2007. – 20 с.

72. Михайлова, Е. А. Клинические рекомендации по диагностике и лечению апластической анемии (редакция 2019 г.) / Е. А. Михайлова, З. Т. Фидарова, В. В. Троицкая [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 2020. – Т. 65, № 2. – С. 208–226. – DOI https://doi.org/10.35754/0234-5730-2020-65-2-208-226.

73. Моисеев, С. В. Анемия при онкологических заболеваниях / С. В. Моисеев // Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. – 2012. – Т. 1, № 1. – С. 77–82.

74. Моисеев, С. В. Препараты железа в лечении анемии у онкологических больных / С. В. Моисеев // Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. – 2012. – № 2. – С. 32–39.

75. Моор, Ю. В. Особенности оказания трансфузиологической поддержки пациентам с гипопродукционной тромбоцитопенией в условиях дневного стационара ГБУЗ НСО «Новосибирский клинический центр крови» / Ю. В. Моор, Н. В. Просвирина, Г. В. Шамаева [и др.] // Journal of Siberian Medical Sciences. – 2023. – № 3. – URL: https://cyberleninka.ru/article/n/osobennosti-okazaniya-transfuziologicheskoy-podderzhki-patsientam-s-gipoproduktsionnoy-trombotsitopeniey-v-usloviyah-dnevnogo (дата обращения: 25.02.2025).

76. Мохов, А. А. Использование технологий геномного редактирования: достижения и перспективы / А. А. Мохов, А. А. Чапленко, А. Н. Яворский // Биомедицина. – 2019. – Т. 15, № 2. – С. 34–42.

77. Назаров, К. В. Продукция иммунорегуляторных молекул индуцированными эритробластами на различных стадиях дифференцировки / К. В. Назаров, Р. Ю. Перик-Заводский, М. С. Кузнецова [и др.] // Acta biomedica scientifica. – 2022. – Т. 7, № 5-1. – С. 179–187. – DOI https://doi.org/10.29413/ABS.2022-7.5-1.19.

78. Неупокоева, О. В. Влияние тиофана и экстракта трансформированных корней шлемника байкальского на индуцированный мутагенез: автореф. дис. … канд. биол. наук: 14.03.06 / Неупокоева Оксана Владимировна. – Томск, 2015. – 22 с.

79. Неупокоева, О. В. Коррекция цитогенетических эффектов паклитаксела и цисплатина экстрактом корней шлемника байкальского / О. В. Неупокоева, О. Л. Воронова, А. А. Чурин [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2013. – Т. 76, № 12. – С. 24–27.

80. Никифорова, А. Г. Содержание органических кислот и каротиноидов в плодах рябины (*Sorbus*) / А. Г. Никифорова, Е. А. Скочилова, С. В. Мухаметова // Сельское хозяйство. – 2022. – № 1. – С. 1–9. – DOI https://doi.org/10.7256/2453-8809.2022.1.37915.

81. Новик, А. В. Анемия и метаболические расстройства у онкологических больных / А. В. Новик // Практическая онкология. – 2009. – Т. 10, № 3. – С. 131–139.

82. Новиков, В. Е. Роль активных форм кислорода в физиологии и патологии клетки и их фармакологическая регуляция / В. Е. Новиков, О. С. Левченкова, Е. В. Пожилова // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2014. – Т. 12, № 4. – С. 13–21. – DOI https://doi.org/10.17816/RCF12413-21.

83. Оразгалиева, М. Г. Возможности современной терапии в онкологии: клеточная и генная терапия / М. Г. Оразгалиева, Г. Т. Тнимова // Актуальные проблемы современности. – 2020. – № 3 (29). – С. 161–165.

84. Орлова, Р. В. Анемия. Злокачественные опухоли / Р. В. Орлова, О. А. Гладков, С. И. Кутукова [и др.] // Злокачественные опухоли. – 2023. – Т. 13, № 3s2-2. – С. 22–28. – DOI https://doi.org/10.18027/2224-5057-2023-13-3s2-2-22-28.

85. Павлов, В. Н. Свободнорадикальное окисление и канцерогенез: дискуссионные вопросы / В. Н. Павлов, И. Р. Рахматуллина, Р. Р. Фархутдинов [и др.] // Креативная хирургия и онкология. – 2017. – Т. 7, № 2. – С. 54–61. – DOI https://doi.org/10.24060/2076-3093-2017-7-2-54-61.

86. Парсаданян, А. М. Таргетная терапия HER2-позитивного рака молочной железы (обзор литературы) / А. М. Парсаданян, И. А. Чернопятова // Вестн. Уральской мед. акад. науки. – 2017. – Т. 14, № 2. – С. 182–193.

87. Переводчикова, Н. И. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний / Н. И. Переводчикова, В. А. Горбунова. – 5-е изд., перераб. и доп. – М., 2018. – 156 с.

88. Пескин, А. В. Взаимодействие активного кислорода с ДНК / А. В. Пескин // Биохимия. – 1997. – Т. 62, вып. 12. – С. 1571–1577.

89. Петрухина, И. К. Реализация противоопухолевых лекарственных препаратов в розничном сегменте фармацевтического рынка Российской Федерации / И. К. Петрухина, Т. К. Рязанова, Е. П. Гладунова [и др.] // Фарма-

коэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. – 2023. – Т. 16, № 4. – С. 619–629. – DOI https://doi.org/10.17749/2070-4909/farmakoekonomika.2023.212.

90. Плигина, К. Л. Разработка методики цитогенетического анализа ооцитов для генотоксикологической оценки лекарственных средств: автореф. дис. … канд. биол. наук: 14.03.06 / Плигина Кира Львовна. – М., 2019. – 22 с.

91. Поздина, В. А. Иммунофенотипическая и морфометрическая оценка культуры макрофагов костного мозга, стимулированных аминодигидрофталазиндионом натрия *in vitro* / В. А. Поздина, У. В. Зведенинова, М. В. Улитко [и др.] // Цитология. – 2021. – Т. 63, № 5. – С. 449–459. – DOI 10.31857/S0041377121050096.

92. Покровский, В. С. Экспериментальная оценка синергизма цисплатина с L-лизин-α-оксидазой / В. С. Покровский, Е. В. Лукашева, Е. М. Трещалина // Вопросы онкологии. – 2014. – Т. 60, № 1. – С. 90–93.

93. Покровский, В. С. Рибонуклеазы с антипролиферативной активностью: молекулярно-биологические и биохимические свойства / В. С. Покровский, Е. М. Трещалина, Н. В. Андронова, С. М. Деев // Клиническая онкогематология. – 2016. – Т. 9, № 2. – С. 130–137. – DOI https://doi.org/10.21320/2500-2139-2016-9-2-130-137.

94. Покровский, В. С. Ферментные препараты в онкогематологии: актуальные направления экспериментальных исследований и перспективы клинического применения / В. С. Покровский, Е. М. Трещалина // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2014. – Т. 7, № 1. – С. 28–38.

95. Проценко, Л. Д. Химия и фармакология синтетических противоопухолевых препаратов. Справочник / Л. Д. Проценко, З. П. Булкина. – Киев : Наукова думка, 1985. – 268 с.

96. Ренгартен, Г. А. Интродукция и селекция *Sorbus* (Rosaceae) в качестве пищевого растения в странах мира / Г. А. Ренгартен, В. Н. Сорокопудов // Экосистемы. – 2019. – № 18 (48). – С. 89–93.

97. Романенко, Н. А. Аспекты патогенеза анемии у пациентов онкологического профиля / Н. А. Романенко, С. С. Бессмельцев, А. Е. Алборов [и др.] // Казанский мед. журнал. – 2019. – Т. 100, № 6. – С. 950–957. – DOI 10.17816/KM52019-950.

98. Романенко, Н. А. Приобретенные гемолитические анемии неиммунного генеза (лекция). Ч. 3 / Н. А. Романенко, Е. Р. Шилова // Вестн. гематологии. – 2023. – Т. 19, № 1. – С. 49–63.

99. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях / под ред. Н. Н. Каркищенко, С. В. Грачева. – М., 2010. – 344 с.

100. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. – М. : Гриф и К, 2013. – 944 с.

101. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р. У. Хабриева. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : ОАО Изд-во «Медицина», 2005. – 832 с.

102. Сакаева, Д. Д. Анемия и дефицит железа у онкологических больных: роль внутривенных препаратов железа (обзор литературы) / Д. Д. Сакаева // Современная онкология. – 2022. – Т. 24, № 4. – С. 468–476. – DOI https://doi.org/10.26442/18151434.2022.4.202018.

103. Саржевский, В. О. Изменения желудочно-кишечного тракта при высокодозной химиотерапии и аутологичной трансплантации костного мозга у пациентов с онкогематологическими заболеваниями / В. О. Саржевский, Е. Г. Смирнова, В. Я. Мельниченко // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика. – 2014. – Т. 7, № 3. – С. 343–353.

104. Сафонова, Е. А. Экспериментальное обоснование применения полисахаридов *Tussilago farfara* L. в комплексной терапии опухолей: автореф. дис. … док. мед. наук: 3.3.6. / Сафонова Елена Андреевна. – Томск, 2021. – 48 с.

105. Семенкин, А. А. Таргетная терапия в онкологии / А. А. Семенкин, В. С. Сапроненко, Е. Н. Логинова, Е. В. Надей // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2022. – № 9 (205). – С. 222–228. – DOI https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-205-9-222-228.

106. Скопин, П. И. Изучение влияния препаратов антиоксидантного действия на физиологические реакции животных, получающих противоопухолевую химиотерапию / П. И. Скопин, А. В. Зорькина, М. Т. Кулаев, А. А. Пешев // Биомедицина. – 2011. – № 3. – С. 70–75.

107. Снеговой, А. В. Протоколы клинических рекомендаций поддерживающей терапии в онкологии / А. В. Снеговой, И. Б. Кононенко, В. Б. Ларионова [и др.]. – М. : АБВ-пресс, 2017. – 11 с.

108. Соколов, С. Я. Фитотерапия и фитофармакология: Руководство для врачей / С. Я. Соколов. – М. : МИА, 2000. – 976 с. – ISBN 5-89481-069-0.

109. Состояние онкологической помощи населению России в 2023 году / под ред. А. Д. Каприна [и др.] ; М-во здравоохранения Рос. Федерации. – М., 2024. – 260 с.

110. Софьина, З. П. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США / З. П. Софьина, А. Б. Сыркин, А. Голдин, А. Кляйн. – М. : Медицина, 1980. – 296 с.

111. Тараховский, Ю. С. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Ю. С. Тараховский, Ю. А. Ким, Б. С. Абдрасилов, Е. Н. Музафаров. – Пущино: Synchrobook, 2013. – 310 с.

112. Удут, Е. В. Фармакологическая коррекция анемического синдрома при миелоингибирующих воздействиях: автореф. дис. … док. мед. наук: 14.00.25 / Удут Елена Владимировна. – Томск, 2008. – 45 с.

113. Федоров, А. А. Поляризация макрофагов: механизмы, маркеры и факторы индукции / А. А. Федоров, Н. А. Ермак, Т. С. Геращенко [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2022. – Т. 21, № 4. – С. 124–136. – DOI https://doi.org/10.21294/1814-4861-2022-21-4-124-136.

114. Федосеева, Л. М. Изучение дубильных веществ подземных и надземных вегетативных органов бадана толстолистного, произрастающего на Алтае / Л. М. Федосеева // Химия растительного сырья. – 2005. – № 3. – С. 45–50.

115. Харкевич, Д. А. Фармакология: учеб. / Д. А. Харкевич. – 13-е изд. – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2022. – 752 с.

116. Цымбал, Д. О. Сравнительная оценка биологической активности кверцетиноподобных соединений / Д. О. Цымбал // Проблемы здоровья и экологии. – 2024. – Т. 21, № 1. – С. 18–28. – DOI https://doi.org/10.51523/2708-6011.2024-21-1-02.

117. Чаулин, А. М. Проаритмические эффекты доксорубицина (обзор литературы) / А. М. Чаулин, Ю. В. Григорьева // Изв. высш. учеб. заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2020. – № 3 (55). – С. 118–132. – DOI https://doi.org/10.21685/2072-3032-2020-3-11.

118. Чернов, В. И. Инновационные радиофармпрепараты для диагностики и лечения злокачественных новообразований / В. И. Чернов, А. А. Медведева, Р. В. Зельчан [и др.] // Онкологический журнал: лучевая диагностика, лучевая терапия. – 2020. – Т. 3, № 4. – С. 26–38. – DOI https://doi.org/10.37174/2587-7593-2020-3-4-26-38.

119. Чернов, В. М. Анемия у пациентов с онкологическими заболеваниями: современные возможности лечения (обзор литературы) / В. М. Чернов, В. В. Птушкин // Онкогематология. – 2013. – № 2. – С. 77–82.

120. Чистякова, Е. Поддерживающая терапия моноклональными антителами при метастатическом HER2-позитивном раке молочной железы: обзор исследований / Е. Чистякова, Р. Орлова // Вестн. Санкт-Петербургского ун-та. Медицина. – 2023. – Т. 18, № 1. – С. 63–69. – DOI https://doi.org/10.21638/spbu11.2023.105.

121. Чу, Э. Химиотерапия злокачественных новообразований / Э. Чу, В. Де Вита-младший. – М. : Практика, 2009. – 455 с.

122. Шубникова, Е. В. Ингибиторы контрольных точек иммунного ответа: новые риски нового класса противоопухолевых средств / Е. В. Шубникова, Т. М. Букатина, Н. Ю. Вельц [и др.] // Безопасность и риск фармакотерапии. – 2020. – Т. 8, № 1. – С. 9–22. – DOI https://doi.org/10.30895/2312-7821-2020-8-1-9-22.

123. Abraham, S. K. Antigenotoxic effects of resveratrol: Assessment of *in vitro* and *in vivo* response / S. K. Abraham, N. Khandelwal, H. Hintzsche, H. Stopper // Mutagenesis. – 2016. – Vol. 31, No. 1. – P. 27–33. – DOI https://doi.org/10.1093/mutage/gev079.

124. Ahles, S. The Effect of Long-Term *Aronia melanocarpa* Extract Supplementation on Cognitive Performance, Mood, and Vascular Function: A Randomized Controlled Trial in Healthy, Middle-Aged Individuals / S. Ahles, Y. R. Stevens, P. J. Joris [et al.] // Nutrients. – 2020. – Vol. 12, No. 8. – P. 2475. – DOI https://doi.org/10.3390/nu12082475.

125. Aiyer, H. S. Influence of berry polyphenols on receptor signaling and cell-death pathways: implications for breast cancer prevention / H. S. Aiyer // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2012. – Vol. 60, No. 23. – P. 5693–5708. – DOI https://doi.org/10.1021/jf204084f.

126. Albano, D. Imaging side effects and complications of chemotherapy and radiation therapy: a pictorial review from head to toe / D. Albano, M. Benenati, A. Bruno [et al.] // Insights into Imaging. – 2021. – Vol. 12, No. 1. – P. 76. – DOI https://doi.org/10.1186/s13244-021-01017-2.

127. Ali, M. S. *Aronia melanocarpa* Extract Fermented by Lactobacillus plantarum EJ2014 Modulates Immune Response in Mice / M. S. Ali, E. B. Lee, S. J. Lee [et al.] // Antioxidants. – 2021. – Vol. 10, No. 8. – P. 1276. – DOI https://doi.org/10.3390/antiox10081276.

128. Arvinte, O. M. Rowanberry-A Source of Bioactive Compounds and Their Biopharmaceutical Properties / O. M. Arvinte, L. Senila, A. Becze, S. Amariei // Plants. – 2023. – Vol. 12, No. 18. – P. 3225. – DOI https://doi.org/10.3390/plants12183225.

129. Attia, S. M. Impact of dexrazoxane on doxorubicin-induced aneuploidy in somatic and germinal cells of male mice / S. M. Attia, S. F. Ahmad, S. A. Bakheet // Cancer Chemotherapy and Pharmacology. – 2016. – Vol. 77, No. 1. – P. 27–33. – DOI https://doi.org/10.1007/s00280-015-2925-2.

130. Auerbach, M. Darbepoetin alfa 300 or 500 mcg once every 3 weeks with or without intravenous iron in patients with chemotherapy-induced anemia / M. Auerbach, P. T. Silberstein, R. T. Webb [et al.] // American Journal of Hematology. – 2010. – Vol. 85, No. 9. – P. 655–663. – DOI https://doi.org/10.1002/ajh.21786.

131. Aurori, M. The Nephroprotective Effect of Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.) and Rowanberry (*Sorbus aucuparia* L.) in Gentamicin-Induced Nephrotoxicity on Wistar Rats with Emphasis on the Evaluation of Novel Renal Biomarkers and the Antioxidant Capacity in Correlation with Nitro-Oxidative Stress / M. Aurori, S. Andrei, A. I. Dreanca [et al.] // Nutrients. – 2023. – Vol. 15, No. 20. – P. 4392. – DOI https://doi.org/10.3390/nu15204392.

132. Avula, B. Advances in the Chemistry, Analysis and Adulteration of Anthocyanin Rich-Berries and Fruits: 2000-2022 / B. Avula, K. Katragunta, A. G. Osman [et al.] // Molecules. – 2023. – Vol. 28, No. 2. – P. 560. – DOI https://doi.org/10.3390/molecules28020560.

133. Bai, X. Cyanidin attenuates the apoptosis of rat nucleus pulposus cells and the degeneration of intervertebral disc via the JAK2/STAT3 signal pathway *in vitro* and *in vivo* / X. Bai, M. Jiang, J. Wang [et al.] // Pharmaceutical Biology. – 2022. – Vol. 60, No. 1. – P. 427–436. – DOI https://doi.org/10.1080/13880209.2022.2035773.

134. Bakiri, L. Liver cancer development driven by the AP-1/c-Jun~Fra-2 dimer through c-Myc / L. Bakiri, S. C. Hasenfuss, A. Guío-Carrión [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2024. – Vol. 121, No. 18. – P. e2404188121. – DOI https://doi.org/10.1073/pnas.2404188121.

135. Banach, M. Evaluation of Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of Anthocyanin-Rich Water-Soluble *Aronia* Dry Extracts / M. Banach, M. Wiloch, K. Zawada, W. Cyplik [et al.] // Molecules. – 2020. – Vol. 25, No. 18. – P. 4055. – DOI https://doi.org/10.3390/molecules25184055.

136. Bastit, L. Randomized, multi-center, controlled trial comparing the efficacy and safety of darbepoetin alfa administered every 3 weeks with or without intravenous iron in patients with chemotherapy-induced anemia / L. Bastit, A. Vandebroek, S. Altintas [et al.] // Journal of Clinical Oncology. – 2008. – Vol. 26, No. 10. – P. 1611–1618. – DOI https://doi.org/10.1200/JCO.2007.12.2051.

137. Bigos, K. J. Tumour response to hypoxia: understanding the hypoxic tumour microenvironment to improve treatment outcome in solid tumours / K.J. Bigos, C. G. Quiles, S. Lunj [et al.] // Frontiers in Oncology. – 2024. – Vol. 14. – P. 1331355. – DOI https://doi.org/10.3389/fonc.2024.1331355.

138. Bispo, E. C. I. Immunomodulatory effect of IFN-γ licensed adipose-mesenchymal stromal cells in an *in vitro* model of inflammation generated by SARS-CoV-2 antigens / E. C. I. Bispo, E. R. Argañaraz, F. d. R. Neves [et al.] // Scientific Reports. – 2024. – Vol. 14. – P. 24235. – DOI https://doi.org/10.1038/s41598-024-75776-5.

139. Blandino, G. The new world of RNA diagnostics and therapeutics / G. Blandino, R. Dinami, M. Marcia [et al.] // Journal of Experimental & Clinical Cancer Research. – 2023. – Vol. 42, No. 1. – P. 189. – DOI https://doi.org/10.1186/s13046-023-02752-8.

140. Bobinaitė, R. Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activities of the extracts isolated from the pomace of rowanberry (*Sorbus aucuparia* L.) / R. Bobinaitė, C. Grootaert, J. Van Camp [et al.] // Food Research International. – 2020. – Vol. 136. – P. 109310. – DOI https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109310.

141. Bohlius, J. Management of cancer-associated anemia with erythropoiesis-stimulating agents: ASCO/ASH clinical practice guideline update / J. Bohlius

[et al.] // Journal of Clinical Oncology. – 2019. – Vol. 37, No. 15. – P. 1336–1351. – DOI https://doi.org/10.1200/JCO.18.02142.

142. Borges, M. D. Macrophages: key players in erythrocyte turnover / M. D. Borges, R. Sesti-Costa // Hematology, Transfusion and Cell Therapy. – 2022. – Vol. 44, No. 4. – P. 574–581. – DOI https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.07.002.

143. Brandstetter, H. The 1.8-Å crystal structure of a matrix metalloproteinase 8-barbiturate inhibitor complex reveals a previously unobserved mechanism for collagenase structure recognition / H. Brandstetter // Journal of Biological Chemistry. – 2001. – Vol. 276, No. 20. – P. 17405–17412. – DOI https://doi.org/10.1074/jbc.M009670200.

144. Brasky, T. M. Supplemental one-carbon metabolism related B vitamins and lung cancer risk in the Women's Health Initiative / T. M. Brasky, R. M. Ray, S. L. Navarro [et al.] // International Journal of Cancer. – 2020. – Vol. 147, No. 5. – P. 1374–1384. – DOI https://doi.org/10.1002/ijc.32913.

145. Brown, E. M. Mechanisms underlying the anti-proliferative effects of berry components in *in vitro* models of colon cancer / E. M. Brown, C. I. Gill, G. J. McDougall, D. Stewart // Current Pharmaceutical Biotechnology. – 2012. – Vol. 13, No. 1. – P. 200–209. – DOI https://doi.org/10.2174/138920112798868773.

146. Bubols, G. B. The antioxidant activity of coumarins and flavonoids / G. B. Bubols, D. da R. Vianna, A. Medina-Remon [et al.] // Mini-Reviews in Medicinal Chemistry. – 2013. – Vol. 13, No. 3. – P. 318–334. – DOI https://doi.org/10.2174/138955713804999775.

147. Buda, V. Biological Evaluation of Black Chokeberry Extract Free and Embedded in Two Mesoporous Silica-Type Matrices / V. Buda, A.-M. Brezoiu, D. Berger [et al.] // Pharmaceutics. – 2020. – Vol. 12, No. 9. – P. 838. – DOI https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12090838.

148. Buda, V. Cardioprotective Effects of Cultivated Black Chokeberries (*Aronia* spp.): Traditional Uses, Phytochemistry and Therapeutic Effects / V. Bu-

da, M. Andor, A. Diana [et al.] // Natural Products – From Bioactive Molecules to Human Health / ed. by J. M. M. Rodrigues. – London: IntechOpen, 2020. – DOI https://doi.org/10.5772/intechopen.91784.

149. Bujor, A. Metabolite profiling, arginase inhibition and vasorelaxant activity of *Cornus mas*, *Sorbus aucuparia* and *Viburnum opulus* fruit extracts / A. Bujor, A. Miron, S. V. Luca [et al.] // Food and Chemical Toxicology. – 2019. – Vol. 133. – P. 110764. – DOI https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110764.

150. Burus, A. The effect of the combination therapy with chlorophyllin, a glutathione transferase P1-1 inhibitor, and docetaxel on triple-negative breast cancer invasion and metastasis *in vivo/in vitro* / A. Burus, M. Ozcan, H. Canpinar [et al.] // Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology. – 2025. – Vol. 398, No. 8. – P. 10569–10580. – DOI https://doi.org/10.1007/s00210-025-03929-y.

151. Bushmeleva, K. Radical Scavenging Actions and Immunomodulatory Activity of *Aronia melanocarpa* Propylene Glycol Extracts / K. Bushmeleva, A. Vyshtakalyuk, D. Terenzhev [et al.] // Plants. – 2021. – Vol. 10, No. 11. – P. 2458. – DOI https://doi.org/10.3390/plants10112458.

152. Calvet, L. No topoisomerase I alteration in a neuroblastoma model with *in vivo* acquired resistance to irinotecan / L. Calvet, A. Santos, A. Valent [et al.] // British Journal of Cancer. – 2004. – Vol. 91, No. 6. – P. 1205–1212. – DOI https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6602079.

153. Camadan, Y. Investigating *In Vitro* Antioxidant and Antimicrobial Activity of Different Sorbus Species in Artvin Province of Türkiye / Y. Camadan, H. Akyıldırım Beğen, Ş. Ceylan [et al.] // Journal of the Institute of Science and Technology. – 2023. – Vol. 13, No. 4. – P. 2818–2828. – DOI https://doi.org/10.21597/jist.1259358.

154. Charepalli, V. Anthocyanin-containing purple-fleshed potatoes suppress colon tumorigenesis via elimination of colon cancer stem cells / V. Charepalli, L. Reddivari, S. Radhakrishnan [et al.] // The Journal of Nutritional Biochemistry. – 2015. – Vol. 26, No. 12. – P. 1641–1649. – DOI https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.08.005.

155. Chen, X.Y. Black rice anthocyanins suppress metastasis of breast cancer cells by targeting RAS/RAF/MAPK pathway / X.Y. Chen, J. Zhou, L.P. Luo [et al.] // BioMed Research International. – 2015. – Vol. 2015. – P. 1–11. – DOI 10.1155/2015/847490.

156. Chhikara, B.S. Global Cancer Statistics 2022: The Trends Projection Analysis / B.S. Chhikara, K. Parang // Chemical Biology Letters. – 2023. – Vol. 10, No. 1. – P. 451.

157. Chung, C. Current therapies for classic myeloproliferative neoplasms: A focus on pathophysiology and supportive care / C. Chung // American Journal of Health-System Pharmacy. – 2023. – P. zxad181. – DOI 10.1093/ajhp/zxad181.

158. Coiffier, B. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma / B. Coiffier, E. Lepage, J. Briere [et al.] // The New England Journal of Medicinye. – 2002. – Vol. 346, No. 4. – P. 235–242. – DOI 10.1056/NEJMoa011795.

159. Cowper, B. Glycan analysis of erythropoiesis-stimulating agents / B. Cowper, M. Lavén, B. Hakkarainen [et al.] // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2020. – Vol. 180. – P. 113–131.

160. Creangă, E.C. Personalized Therapeutic Advances in Erythropoietin Signaling: From Anemia Management to Extensive Clinical Applications / E. C. Creangă, R. Stan, A.C. Nicolae [et al.] // Pharmaceutics. – 2025. – Vol. 17, No. 9. – Art. 1190. – DOI 10.3390/pharmaceutics17091190.

161. Crichton, R. Iron therapy with special emphasis on intravenous administration / R. Crichton, G. Danielson, P. Geisser. – 1st ed. – Bremen: UNIMED Verlag, 2008. – 127 p.

162. Damen, M.S.M.A. Non-hematopoietic IL-4Rα expression contributes to fructose-driven obesity and metabolic sequelae / M.S.M.A. Damen, T. E. Stankiewicz, S. H. Park [et al.] // International Journal of Obesity. – 2021. – Vol. 45, No. 11. – P. 2377–2387. – DOI 10.1038/s41366-021-00902-6.

163. Das, G. Anti-Aging Effect of Traditional Plant-Based Food: An Overview / G. Das, S. Kameswaran, B. Ramesh [et al.] // Foods. – 2024. – Vol. 13, No. 23. – Art. 3785. – DOI 10.3390/foods13233785.

164. De, S. Pulsatile MAPK Signaling Modulates p53 Activity to Control Cell Fate Decisions at the G2 Checkpoint for DNA Damage / S. De, C. Campbell, A.R. Venkitaraman, A. Esposito // Cell Reports. – 2020. – Vol. 30, No. 7. – P. 2083-2093.e5. – DOI 10.1016/j.celrep.2020.01.074.

165. Dehelean, C.A. Plant-Derived Anticancer Compounds as New Perspectives in Drug Discovery and Alternative Therapy / C.A. Dehelean, I. Marcovici, C. Soica [et al.] // Molecules. – 2021. – Vol. 26, No. 4. – Art. 1109. – DOI 10.3390/molecules26041109.

166. Deluca, S.H. Fully Flexible Docking of Medium Sized Ligand Libraries with Rosetta Ligand / S.H. Deluca, K. Khar, J. Meiler // PLoS ONE. – 2015. – Vol. 10, No. 7. – Art. e0132508. – DOI 10.1371/journal.pone.0132508.

167. Dharmawansa, K.V.S. Chemopreventive Effect of Dietary Anthocyanins against Gastrointestinal Cancers: A Review of Recent Advances and Perspectives / K.V.S. Dharmawansa, D.W. Hoskin, H.P.V. Rupasinghe // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Vol. 21, No. 18. – Art. 6555. – DOI 10.3390/ijms21186555.

168. Diaconeasa, Z. Anthocyanins, Vibrant Color Pigments, and Their Role in Skin Cancer Prevention / Z. Diaconeasa, I. Știrbu, J. Xiao [et al.] // Biomedicines. – 2020. – Vol. 8, No. 9. – Art. 336. – DOI 10.3390/biomedicines8090336.

169. Dietrich-Muszalska, A. Polyphenols from Berries of *Aronia melanocarpa* Reduce the Plasma Lipid Peroxidation Induced by Ziprasidone / A. Dietrich-Muszalska, J. Kopka, B. Kontek // Schizophrenia Research and Treatment. – 2014. – Vol. 2014. – Art. 602390. – DOI 10.1155/2014/602390.

170. Dingemane, K.P. B-16 melanoma Metastasis in Mouse Liver and Lung / K.P. Dingemane [et al.] // Invasion and Metastasis. – 1985. – No. 5. – P. 50–60.

171. Efenberger-Szmechtyk, M. *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot, *Chaenomeles superba* Lindl. and *Cornus mas* L. Leaf Extracts as Natural Preservatives for Pork Meat Products / M. Efenberger-Szmechtyk, I. Gałązka-Czarnecka, A. Otlewska [et al.] // Molecules. – 2021. – Vol. 26, No. 10. – Art. 3009. – DOI 10.3390/molecules26103009.

172. Esselen, M. Anthocyanin-rich extracts suppress the DNA-damaging effects of topoisomerase poisons in human colon cancer cells / M. Esselen, J. Fritz, M. Hutter [et al.] // Molecular Nutrition & Food Research. – 2011. – Vol. 55. – P. 143–153.

173. Etheridge, J. Association between peri-operative red blood cell transfusion and cancer recurrence in patients undergoing major cancer surgery: an umbrella review / J. Etheridge, P. Shah, S.J. Stanworth [et al.] // Anaesthesia. – 2025. – Vol. 80, Suppl. 2. – P. 65–74. – DOI 10.1111/anae.16501.

174. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other scientific purposes. – Strasburg: Council of Europe, 1986. – 51 p.

175. Fàbrega, C. Oligonucleotides Carrying Nucleoside Antimetabolites as Potential Prodrugs / C. Fàbrega, A. Clua, R. Eritja, A. Aviñó // Current Medicinal Chemistry. – 2023. – Vol. 30, No. 11. – P. 1304–1319. – DOI 10.2174/0929867328666211129124039.

176. Fakhar, F. The Potential Role of Dietary Polyphenols in the Prevention and Treatment of Acute Leukemia / F. Fakhar, K. Mohammadian, S. Keramat, A. Stanek // Nutrients. – 2024. – Vol. 16, No. 23. – Art. 4100. – DOI 10.3390/nu16234100.

177. Fei, L. Targeting the CCL2/CCR2 Axis in Cancer Immunotherapy: One Stone, Three Birds? / L. Fei, X. Ren, H. Yu, Y. Zhan // Frontiers in Immunology. – 2021. – Vol. 12. – Art. 771210. – DOI 10.3389/fimmu.2021.771210.

178. Fimognari, C. Induction of apoptosis in two human leukemia cell lines as well as differentiation in human promyelocytic cells by cyanidin-3-O-beta-

glucopyranoside / C. Fimognari, F. Berti, M. Nusse [et al.] // Biochemical Pharmacology. – 2004. – Vol. 67. – P. 2047–2056.

179. Fomenko, S. E. Chemical composition and biological action of rowanberry extract / S. E. Fomenko, N. F. Kushnerova, V. G. Sprygin [et al.] // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. – 2016. – Vol. 42. – P. 764–769. – DOI 10.1134/S1068162016070074.

180. Fu, Y. Roles of TLR4 in macrophage immunity and macrophage-pulmonary vascular/lymphatic endothelial cell interactions in sepsis / Y. Fu, T. Gong, P.A. Loughran [et al.] // Communications Biology. – 2025. – Vol. 8. – Art. 469. – DOI 10.1038/s42003-025-07921-3.

181. Fu, Z. Research progress in RBC alloimmunization / Z. Fu, X. Hao, W. Gao, Q. Wang // Frontiers in Immunology. – 2025. – Vol. 16. – Art. 1677581. – DOI 10.3389/fimmu.2025.1677581.

182. Gao, P. Improvement of the Anticancer Efficacy of PD-1/PD-L1 Blockade: Advances in Molecular Mechanisms and Therapeutic Strategies / P. Gao, X. Li, Z. Duan [et al.] // MedComm (2020). – 2025. – Vol. 6, No. 8. – Art. e70274. – DOI 10.1002/mco2.70274.

183. García-Rodríguez, M. D. C. Effects of green tea polyphenols against metal-induced genotoxic damage: underlying mechanistic pathways / M.D.C. García-Rodríguez, L. M. Hernández-Cortés, V. M. Mendoza-Núñez, F. Arenas-Huertero // Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B: Critical Reviews. – 2023. – Vol. 26, No. 7. – P. 371–386. – DOI 10.1080/10937404.2023.2224119.

184. Geissler, C. Human Nutrition / C. Geissler, H. Powers. – 13th ed. – Oxford: Oxford University Press, 2017. – 784 p.

185. Gezici, S. Current Perspectives in the Application of Medicinal Plants Against Cancer: Novel Therapeutic Agents / S. Gezici, N. Şekeroğlu // Anticancer Agents Medicinal Chemistry. – 2019. – Vol. 19, No. 1. – P. 101–111. – DOI 10.2174/1871520619666181224121004.

186. Gill, N. K. Anticancer Effects of Extracts from Three Different Chokeberry Species / N. K. Gill, D. Rios, E. Osorio-Camacena, B.E. Mojica // Nutrition and Cancer. – 2020. – P. 1–12. – DOI 10.1080/01635581.2020.1789679.

187. Glaspy, J. Update on Safety of ESAs in Cancer-Induced Anemia / J. Glaspy // Journal of the National Comprehensive Cancer Network. – 2012. – Vol. 10, No. 5. – P. 659–666.

188. Gor, P. P. Cyclophosphamide-metabolizing enzyme polymorphisms and survival outcomes after adjuvant chemotherapy for node-positive breast cancer: a retrospective cohort study / P. P. Gor, H. I. Su, R. J. Gray [et al.] // Breast Cancer Research. – 2010. – Vol. 12, No. 1. – Art. R26. – DOI 10.1186/bcr2570.

189. Guan, X. Z. Clinical Indications of Recombinant Human Erythropoietin in a Single Center: A 10-Year Retrospective Study / X. Z. Guan, L. L. Wang, X. Pan [et al.] // Frontiers in Pharmacology. – 2020. – Vol. 11. – Art. 1110. – DOI 10.3389/fphar.2020.01110.

190. Havlena, G. T. Cure of Micrometastatic B-Cell Lymphoma in a SCID Mouse Model Using 213Bi-Anti-CD20 Monoclonal Antibody / G. T. Havlena, N. S. Kapadia, P. Huang [et al.] // Journal of Nuclear Medicine. – 2023. – Vol. 64, No. 1. – P. 109–116. – DOI 10.2967/jnumed.122.263962.

191. Hedenus, M. Addition of intravenous iron to epoetin beta increases hemoglobin response and decreases epoetin dose requirement in anemic patients with lymphoproliferative malignancies: a randomized multicenter study / M. Hedenus, G. Birgegard, P. Nasman [et al.] // Leukemia. – 2007. – Vol. 21. – P. 627–632.

192. Hellmann, K. Antimetastatic drugs: from Laboratory to clinic / K. Hellmann // Clinical & Experimental Metastasis. – 1984. – Vol. 2, No. 1. – P. 1–4.

193. Henry, D. H. Intravenous ferric gluconate improves response to epoetin alfa versus oral iron or no iron in anemic patients with cancer receiving chemotherapy / D. H. Henry, N. V. Dahl, M. Auerbach [et al.] // Oncologist. – 2007. – Vol. 12. – P. 231–242.

194. Hernandez-Martinez, J. M. Immune hemolytic anemia associated with the use of immune checkpoint inhibitors: a scoping review / J. M. Hernandez-Martinez, E. Rios-Garcia, C. B. Palomares-Palomares, O. Arrieta // Frontiers in Immunology. – 2025. – Vol. 16. – Art. 1586426. – DOI 10.3389/fimmu.2025.1586426.

195. Hoffman, P. C. Immune hemolytic anemia–selected topics / P. C. Hoffman // Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program. – 2006. – P. 13–18.

196. Hopkins, J. L. DNA repair defects in cancer and therapeutic opportunities / J. L. Hopkins, L. Lan, L. Zou // Genes and Development. – 2022. – Vol. 36, No. 5–6. – P. 278–293. – DOI 10.1101/gad.349431.122.

197. Hou, D. X. Molecular mechanisms behind the chemopreventive effects of anthocyanidins / D. X. Hou [et al.] // Journal of Biotechnology and Biomedicine. – 2004a. – Vol. 2004, No. 5. – P. 321–325.

198. Hou, D. X. Anthocyanidins inhibit activator protein 1 activity and cell transformation: structure-activity relationship and molecular mechanisms / D. X. Hou, K. Kai, J. J. Li [et al.] // Carcinogenesis. – 2004б. – Vol. 25, No. 1. – P. 29–36.

199. Hou, D. X. Anthocyanidins induce apoptosis in human promyelocytic leukemia cells: structure–activity relationship and mechanisms involved / D. X. Hou, T. Ose, S. Lin [et al.] // International Journal of Oncology. – 2003. – Vol. 23. – P. 705–712.

200. Huang, D. Hypoxia and cancer cell metabolism / D. Huang, C. Li, H. Zhang // Acta Biochimica et Biophysica Sinica. – 2014. – Vol. 46, No. 3. – P. 214–219.

201. Huang, L. Inhibitory action of Celastrol on hypoxia-mediated angiogenesis and metastasis via the HIF-1alpha pathway / L. Huang, Z. Zhang, S. Zhang [et al.] // International Journal of Molecular Medicine. – 2001. – Vol. 27. – P. 407–415.

202. Huang, Y. A bimetallic nanoplatform for STING activation and CRISPR/Cas mediated depletion of the methionine transporter in cancer cells restores anti-tumor immune responses / Y. Huang, G. Qin, T. Cui [et al.] // Nature Communication. – 2023. – Vol. 14. – Art. 4647. – DOI 10.1038/s41467-023-40345-3.

203. Hwang, E.-S. Anti-cancer and anti-inflammatory activities of aronia (*Aronia Melanocarpa*) leaves / E.-S. Hwang, N. D. Thi // Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. – 2018. – Vol. 8, No. 12. – P. 586–591. – DOI 10.4103/2221-1691.248095.

204. Iwashima, T. Aronia berry extract inhibits TNF-α-induced vascular endothelial inflammation through the regulation of STAT3 / T. Iwashima, Y. Kudome, Y. Kishimoto [et al.] // Food & Nutrition Research. – 2019. – Vol. 63. – Art. 3361. – DOI 10.29219/fnr.v63.3361.

205. Jacobsen, R. N. Mobilization with granulocyte colony-stimulating factor blocks medullary erythropoiesis by depleting F4/80(+)VCAM1(+)CD169(+)ERHR3(+)Ly6G(+)erythroid island macrophages in the mouse / R. N. Jacobsen, C. E. Forristal, L. J. Raggatt [et al.] // Experimental Hematology. – 2014. – Vol. 42, No. 7. – P. 547–561.

206. Johnson, L. A. Obesity effects on cyclophosphamide-induced DNA damage in hematopoietic cell transplant recipients / L. A. Johnson, N. Tretyakova, P. A. Jacobson // In Vivo. – 2012. – Vol. 26, No. 5. – P. 853–857.

207. Jureczek, J. Antibody-Based Immunotherapies for the Treatment of Hematologic Malignancies / J. Jureczek, K. Kałwak, P. Dzięgiel // Cancers (Basel). – 2024. – Vol. 16, No. 24. – Art. 4181. – DOI 10.3390/cancers16244181.

208. Jurendic, T. Aronia melanocarpa Products and By-Products for Health and Nutrition: A Review / T. Jurendic, M. Scetar // Antioxidants (Basel). – 2021. – Vol. 10, No. 7. – Art. 1052. – DOI 10.3390/antiox10071052.

209. Kala, J. Acute Kidney Injury Associated with Anticancer Therapies: Small Molecules and Targeted Therapies / J. Kala, T. Joseph, M. Pirovano [et al.]

// Kidney360. – 2024. – Vol. 5, No. 11. – P. 1750–1762. – DOI 10.34067/KID.0000000000000566.

210. Kawane, K. Requirement of DNase II for definitive erythropoiesis in the mouse fetal liver / K. Kawane, H. Fukuyama, G. Kondoh [et al.] // Science. – 2001. – Vol. 292, No. 5521. – P. 1546–1549.

211. Kędzierska, M. Chemotherapy modulates the biological activity of breast cancer patients plasma: the protective properties of black chokeberry extract / M. Kędzierska, P. Sitarek, T. Kowalczyk [et al.] // Food and Chemical Toxicology. – 2013a. – Vol. 53. – P. 126–132. – DOI 10.1016/j.fct.2012.11.042.

212. Kędzierska, M. Changes in plasma thiol levels induced by different phases of treatment in breast cancer; the role of commercial extract from black chokeberry / M. Kędzierska, R. Glowacki, U. Czernek [et al.] // Molecular and Cellular Biochemistry. – 2013б. – Vol. 372. – P. 47–55.

213. Kędzierska, M. An extract from berries of *Aronia melanocarpa* modulates the generation of superoxide anion radicals in blood platelets from breast cancer patients / M. Kędzierska, B. Olas, B. Wachowicz [et al.] // Planta Medica. – 2009. – Vol. 75, No. 13. – P. 1405–1409. – DOI 10.1055/s-0029-1185718.

214. Kędzierska-Kapuza, K. Demand for Water-Soluble Vitamins in a Group of Patients with CKD versus Interventions and Supplementation-A Systematic Review / K. Kędzierska-Kapuza, U. Szczuko, H. Stolińska [et al.] // Nutrients. – 2023. – Vol. 15, No. 4. – Art. 860. – DOI 10.3390/nu15040860.

215. Ko, J. C. Involvement of Rad51 in cytotoxicity induced by epidermal growth factor receptor inhibitor (gefitinib, IressaR) and chemotherapeutic agents in human lung cancer cells / J. C. Ko, S. C. Ciou, C. M. Cheng [et al.] // Carcinogenesis. – 2008. – Vol. 29, No. 7. – P. 1448–1458. – DOI 10.1093/carcin/bgn130.

216. Kontoghiorghes, G. J. Drug Selection and Posology, Optimal Therapies and Risk/Benefit Assessment in Medicine: The Paradigm of Iron-Chelating Drugs / G. J. Kontoghiorghes // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24, No. 23. – Art. 16749. – DOI 10.3390/ijms242316749.

217. Korić, E. Phytochemical Characterisation of Sorbus Species: Unveiling Flavonoid Profiles Related to Ploidy and Hybrid Origin / E. Korić, V. Milutinović, A. Hajrudinović-Bogunić [et al.] // Plants (Basel). – 2025. – Vol. 14, No. 1. – Art. 119. – DOI 10.3390/plants14010119.

218. Kovalchuk, A. Adverse effects of paternal chemotherapy exposure on the progeny brain: intergenerational chemobrain / A. Kovalchuk, Y. Ilnytskyy, R. Woycicki [et al.] // Oncotarget. – 2018. – Vol. 9, No. 12. – P. 10069–10082. – DOI 10.18632/oncotarget.24311.

219. Kowalczyk, E. Wpływ antocyjanin z aronii czarnoowocowej na wybrane parametry stresu oksydacyjnego i zawartość mikroelementów u mezczyzn z hipercholesterolemia / E. Kowalczyk, P. Fijałkowski, M. Kura [et al.] // Polski Merkuriusz Lekarski. – 2005. – Vol. 19, No. 113. – P. 651–653.

220. Kozłowska, M. The Impact of a Polyphenol-Rich Extract from the Berries of *Aronia melanocarpa* L. on Collagen Metabolism in the Liver: A Study in an *In Vivo* Model of Human Environmental Exposure to Cadmium / M. Kozłowska, M. M. Brzóska, J. Rogalska, A. Galicka // Nutrients. – 2020. – Vol. 12, No. 9. – Art. 2766. – DOI 10.3390/nu12092766.

221. Kulling, S. E. Chokeberry (*Aronia Melanocarpa*)-A Review on the Characteristic Components and Potential Health Effects / S. E. Kulling, H. Rawel // Planta Medica. – 2008. – Vol. 74, No. 13. – P. 1625–1634. – DOI 10.1055/s-0028-1088306.

222. Lailaja, V. P. Tapping the untapped: type II L-asparaginase from marine crustacean-derived Chryseomicrobium amylolyticum as a potential bio better for blood cancer therapy / V. P. Lailaja, T. G. Sumithra, S. R. K. Sharma [et al.] // Scientific Reports. – 2025. – Vol. 15. – Art. 26759. – DOI 10.1038/s41598-025-08962-8.

223. Lanza, O. New Insights on the Toxicity on Heart and Vessels of Breast Cancer Therapies / O. Lanza, A. Ferrera, S. Reale [et al.] // Medical sciences (Basel, Switzerland). – 2022. – Vol. 10, No. 2. – Art. 27. – DOI 10.3390/medsci10020027.

224. Lee, S. Y. Aucuparin Suppresses Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis Via Anti-Inflammatory Activity / S. Y. Lee, S. Y. Park, G. E. Lee [et al.] // Journal of Medicinal Food. – 2021. – Vol. 24, No. 2. – P. 151–160. – DOI 10.1089/jmf.2020.4861.

225. Lefterova, M. I. PPARγ and the global map of adipogenesis and beyond / M. I. Lefterova, A. K. Haakonsson, M. A. Lazar, S. Mandrup // Trends in Endocrinology and Metabolism. – 2014. – Vol. 25, No. 6. – P. 293–302. – DOI 10.1016/j.tem.2014.04.001.

226. Lemmon, G. Rosetta Ligand docking with flexible XML protocols / G. Lemmon, J. Meiler // Methods in Molecular Biology. – 2012. – Vol. 819. – P. 143–155. – DOI 10.1007/978-1-61779-465-0_10.

227. Li, Q. Enhancer RNAs: mechanisms in transcriptional regulation and functions in diseases / Q. Li, X. Liu, J. Wen [et al.] // Cell Communication and Signaling. – 2023. – Vol. 21, No. 1. – Art. 191. – DOI 10.1186/s12964-023-01206-0.

228. Li, X. Anthocyanins inhibit trastuzumab-resistant breast cancer *in vitro* and *in vivo* / X. Li, J. Xu, X. Tang [et al.] // Molecular Medicine Reports. – 2016. – Vol. 13, No. 5. – P. 4007–4013. – DOI 10.3892/mmr.2016.5016.

229. Li, X. F. Functional role of PPAR-γ on the proliferation and migration of fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis / X. F. Li, Y. Y. Sun, J. Bao [et al.] // Scientific Reports. – 2017. – Vol. 7, No. 1. – Art. 12671. – DOI 10.1038/s41598-017-12570-6.

230. Li, Z. Comparing the efficacy and safety of cisplatin and other platinum-based chemotherapies in locally advanced nasopharyngeal carcinoma: a systematic review and meta-analysis / Z. Li, C. Li, D. Yang [et al.] // BMC Cancer. – 2022. – Vol. 22, No. 1. – Art. 616. – DOI 10.1186/s12885-022-09712-z.

231. Liang, W. Research Progress of Platinum-Based Complexes in Lung Cancer Treatment: Mechanisms, Applications, and Challenges / W. Liang, Y. Huang, Y. Wang [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2025. – Vol. 26, No. 16. – Art. 7958. – DOI 10.3390/ijms26167958.

232. Lin, B. W. Effects of anthocyanins on the prevention and treatment of cancer / B. W. Lin, C. C. Gong, H. F. Song, Y. Y. Cui // British Journal of Pharmacology. – 2017. – Vol. 174, No. 11. – P. 1226–1243. – DOI 10.1111/bph.13627.

233. Liu, D. Strategies to Overcome PD-1/PD-L1 Blockade Resistance: Focusing on Combination with Immune Checkpoint Blockades / D. Liu, H. Xiao, Y. Xiang [et al.] // Journal Cancer. – 2025. – Vol. 16, No. 11. – P. 3425–3449. – DOI 10.7150/jca.108163.

234. Lu, Y. Differential responses to genotoxic agents between induced pluripotent stem cells and tumor cell lines / Y. Lu, D. Xu, J. Zhou [et al.] // Journal of Hematology Oncology. – 2013. – Vol. 6. – Art. 71. – DOI 10.1186/1756-8722-6-71.

235. Lu, C. IFN-γR/STAT1 signaling in recipient hematopoietic antigen-presenting cells suppresses graft-versus-host disease / C. Lu, H. Ma, L. Song [et al.] // Journal of Clinical Investigation. – 2023. – Vol. 133, No. 3. – Art. e125986. – DOI 10.1172/JCI125986.

236. Lucioli, S. Methyl jasmonate promotes anthocyanins production in *Prunus salicina* × *Prunus persica* in vitro shoot cultures / S. Lucioli, C. Di Bari, P. Nota [et al.] // Plant Biosystems. – 2017. – Vol. 151, No. 5. – P. 788–791. – DOI 10.1080/11263504.2016.1255267.

237. Lawday, S. Management of post-operative anaemia in patients undergoing surgery for colorectal cancer: a qualitative focus group-based study / S. Lawday, S. Williams, E. James [et al.] // International Journal of Colorectal Disease. – 2025. – Vol. 40, No. 1. – Art. 14. – DOI 10.1007/s00384-024-04794-6.

238. Maddens, S. Kit signaling inhibits the sphingomyelin-ceramide pathway through PLC gamma 1: implication in stem cell factor radioprotective effect / S. Maddens, A. Charruyer, I. Plo [et al.] // Blood. – 2002. – Vol. 100, No. 4. – P. 1294–1301. – DOI 10.1182/blood.V100.4.1294.h81602001294_1294_1301.

239. Magrone, T. Recent Advances on the Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties of Red Grape Polyphenols: *In Vitro* and *In Vivo* Studies / T. Ma-

grone, M. Magrone, M. A. Russo, E. Jirillo // Antioxidants (Basel). – 2019. – Vol. 9, No. 1. – Art. 35. – DOI 10.3390/antiox9010035.

240. Maiuolo, J. The Employment of *Genera Vaccinium*, *Citrus, Olea*, and *Cynara* Polyphenols for the Reduction of Selected Anti-Cancer Drug Side Effects / J. Maiuolo, V. Musolino, M. Gliozzi [et al.] // Nutrients. – 2022. – Vol. 14, No. 8. – Art. 1574. – DOI 10.3390/nu14081574.

241. Majolo, F. Medical plants and bioactive natural compounds for cancer treatment: Important advances for drug discovery / F. Majolo, L.K. de Oliveira Becker Delwing, D.J. Marmitt [et al.] // Phytochemistry Letters. – 2019. – Vol. 31. – P. 196–207. – DOI 10.1016/j.phytol.2019.04.003.

242. Martin, K.E. Macrophage phenotypes in tissue repair and the foreign body response: Implications for biomaterial-based regenerative medicine strategies / K .E. Martin, A. J. García // Acta Biomaterialia. – 2021. – Vol. 133. – P. 4–16. – DOI 10.1016/j.actbio.2021.03.038.

243. Martin, S. New agents in clinical oncology / S. Martin // Drugs. – 2007. – Vol. 10, No. 2. – P. 99–101.

244. Martínez-Illescas, N. G. miR-203 drives breast cancer cell differentiation / N. G. Martínez-Illescas, S. Leal, P. González [et al.] // Breast Cancer Research. – 2023. – Vol. 25, No. 1. – Art. 91. – DOI 10.1186/s13058-023-01690-9.

245. Matias-Barrios, V. M. The Implication of Topoisomerase II Inhibitors in Synthetic Lethality for Cancer Therapy / V. M. Matias-Barrios, X. Dong // Pharmaceuticals (Basel). – 2023. – Vol. 16, No. 1. – Art. 94. – DOI 10.3390/ph16010094.

246. McKie, S. J. DNA topoisomerases: Advances in understanding of cellular roles and multi-protein complexes via structure-function analysis / S. J. McKie, K. C. Neuman, A. Maxwell // Bioessays. – 2021. – Vol. 43, No. 4. – Art. e2000286. – DOI 10.1002/bies.202000286.

247. McKernan, K. Role of TLR4 in the induction of inflammatory changes in adipocytes and macrophages / K. McKernan, M. Varghese, R. Patel, K. Sing-

er // Adipocyte. – 2020. – Vol. 9, No. 1. – P. 212–222. – DOI 10.1080/21623945.2020.1760674.

248. Méndez-Vidal, M. J. SEOM SOGUG clinical guideline for treatment of kidney cancer (2022) / M. J. Méndez-Vidal, M. Lázaro Quintela, N. Lainez-Milagro [et al.] // Clinical and Translational Oncology. – 2023. – DOI 10.1007/s12094-023-03276-5.

249. Merecz-Sadowska, A. Food Anthocyanins: Malvidin and Its Glycosides as Promising Antioxidant and Anti-Inflammatory Agents with Potential Health Benefits / A. Merecz-Sadowska, P. Sitarek, T. Kowalczyk [et al.] // Nutrients. – 2023. – Vol. 15, No. 13. – Art. 3016. – DOI 10.3390/nu15133016.

250. Metcalf, D. Hematopoietic cytokines / D. Metcalf // Blood. – 2008. – Vol. 111, No. 2. – P. 485–491. – DOI 10.1182/blood-2007-03-079681.

251. Migliorini, A. A. Red Chicory (*Cichorium intybus*) Extract Rich in Anthocyanins: Chemical Stability, Antioxidant Activity, and Antiproliferative Activity *In Vitro* / A. A. Migliorini, C. S. Piroski, T. G. Daniel [et al.] // Journal of Food Science. – 2019. – Vol. 84, No. 5. – P. 990–1001. – DOI 10.1111/1750-3841.14506.

252. Mittelman, M. Anemia of cancer: pathogenesis and treatment with recombinant erythropoietin / M. Mittelman // Israel journal of medical sciences. – 1996. – Vol. 32, No. 12. – P. 1201–1206.

253. Moretti, M. Micronuclei and chromosome aberrations in subjects occupationally exposed to antineoplastic drugs: a multicentric approach / M. Moretti, M. G. Grollino, S. Pavanello [et al.] // International archives of occupational and environmental health. – 2015. – Vol. 88, No. 6. – P. 683–695. – DOI 10.1007/s00420-014-0993-y.

254. Mounier, N. Rituximab plus CHOP (R-CHOP) overcomes bcl-2–associated resistance to chemotherapy in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) / N. Mounier, J. Briere, C. Gisselbrecht [et al.] // Blood. – 2003. – Vol. 101, No. 11. – P. 4279–4284. – DOI 10.1182/blood-2002-11-3442.

255. Mušák, L. Comparison of chromosomal aberrations frequency and polymorphism of GSTs genes in workers occupationally exposed to cytostatics or anaesthetics / L. Mušák, E. Halašová, T. Matáková [et al.] // Interdisciplinary toxicology. – 2009. – Vol. 2, No. 3. – P. 190–194. – DOI 10.2478/v10102-009-0016-0.

256. Musto, P. Clinical results of recombinant human erythropoietin in transfusion-dependent patients with refractory multiple myeloma; role of cytokines and monitoring of erythropoiesis / P. Musto, A. Falcone, G. D'Arena [et al.] // European Journal of Haematology. – 1997. – Vol. 58, No. 5. – P. 314–319. – DOI 10.1111/j.1600-0609.1997.tb01679.x.

257. Mut-Salud, N. Antioxidant Intake and Antitumor Therapy: Toward Nutritional Recommendations for Optimal Results / N. Mut-Salud, P. J. Álvarez, J. M. Garrido [et al.] // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2016. – Vol. 2016. – Art. 6719534. – DOI 10.1155/2016/6719534.

258. National Comprehensive Cancer Network. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: Cancer- and Chemotherapy-Induced Anemia. Version 1.2018 // NCCN Guidelines. – 2017.

259. Németh, E. The mutagenic consequences of defective DNA repair / E. Németh, D. Szüts // DNA Repair (Amst). – 2024. – Vol. 139. – Art. 103694. – DOI 10.1016/j.dnarep.2024.103694.

260. Nies, K. Chemotherapy-Induced Hematological Toxicity in Patients with Renal or Hepatic Impairment / K. Nies, R. Vernooij, L. Devriese [et al.] // Pharmaceutics. – 2025. – Vol. 17, No. 10. – Art. 1280. – DOI 10.3390/pharmaceutics17101280.

261. Nitiss, J. L. DNA topoisomerase II and its growing repertoire of biological functions / J. L. Nitiss // Nature Reviews Cancer. – 2009. – Vol. 9, No. 5. – P. 327–337. – DOI 10.1038/nrc2608.

262. Nitiss, K. C. Genome Instability Induced by Topoisomerase Misfunction / K. C. Nitiss, A. Bandak, J. M. Berger, J. L. Nitiss // International Journal of Molecular Sciences. – 2024. – Vol. 25, No. 19. – Art. 10247. – DOI 10.3390/ijms251910247.

263. Nourazarian, A. R. Roles of Oxidative Stress in the Development and Progression of Breast Cancer / A. R. Nourazarian, P. Kangari, A. Salmaninejad // Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. – 2014. – Vol. 15, No. 12. – P. 4745–4751. – DOI 10.7314/apjcp.2014.15.12.4745.

264. Novak, M. Assessment of the genotoxicity of the tyrosine kinase inhibitor imatinib mesylate in cultured fish and human cells / M. Novak, B. Žegura, J. Nunić [et al.] // Mutation Research: Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. – 2017. – Vol. 814. – P. 14–21. – DOI 10.1016/j.mrgentox.2016.12.005.

265. Nowak, D. Antioxidant Properties of *Aronia melanocarpa* and Morinda citrifolia Juices and their Impact on Bladder Cancer Cell Lines / D. Nowak, T. Kloskowski, M. Gośliński [et al.] // Medical Science Monitor. – 2025. – Vol. 31. – Art. e945120. – DOI 10.12659/MSM.945120.

266. Oak, M. H. Delphinidin and cyanidin inhibit PDGF(AB)-induced VEGF release in vascular smooth muscle cells by preventing activation of p38 MAPK and JNK / M. H. Oak, J. E. Bedoui, S. V. Madeira, K. Chalupsky [et al.] // British Journal of Pharmacology. – 2006. – Vol. 149, No. 3. – P. 283–290. – DOI 10.1038/sj.bjp.0706843.

267. Ochmian, I. D. Comparison of Some Morphological Features, Quality and Chemical Content of Four Cultivars of Chokeberry Fruits (*Aronia Melanocarpa*) / I. D. Ochmian, J. Grajkowski, M. Smolik // Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. – 2012. – Vol. 40, No. 1. – P. 253–260. – DOI 10.15835/nbha4017181.

268. Oh, J. W. Anticancer Therapeutic Effects of Green Tea Catechins (GTCs) When Integrated with Antioxidant Natural Components / J. W. Oh, M. Muthu, S. S. C. Pushparaj, J. Gopal // Molecules. – 2023. – Vol. 28, No. 5. – Art. 2151. – DOI 10.3390/molecules28052151.

269. Ozcan, M. Protective effects of antioxidant chlorophyllin in chemically induced breast cancer model *in vivo* / M. Ozcan, D. Aydemir, M. Bacanli [et al.] // Biological Trace Element Research. – 2021. – Vol. 199, No. 12. – P. 4475–4488. – DOI 10.1007/s12011-021-02585-6.

270. Patnaik, M. M. The complete evaluation of erythrocytosis: congenital and acquired / M. M. Patnaik, A. Tefferi // Leukemia. – 2009. – Vol. 23, No. 5. – P. 834–844. – DOI 10.1038/leu.2009.54.

271. Paulrayer, A. *Aronia melanocarpa* (Black Chokeberry) Reduces Ethanol-Induced Gastric Damage via Regulation of HSP-70, NF-κB, and MCP-1 Signaling / A. Paulrayer, A. Adithan, J. H. Lee [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2017. – Vol. 18, No. 6. – Art. 1195. – DOI 10.3390/ijms18061195.

272. Pavlova, V. Antioxidant effect of *Aronia melanocarpa* extract after doxorubicin treatment / V. Pavlova, I. Sainova, B. Alexieva [et al.] // Bulgarian Journal of Agricultural Science. – 2014. – Vol. 20 (Suppl. 1). – P. 188–192.

273. Peesari, S. Regulation of human Th9 cell differentiation by lipid modulators targeting PPAR-γ and acetyl-CoA-carboxylase 1 / S. Peesari, J. P. McAleer // Frontiers in Immunology. – 2024. – Vol. 15. – Art. 1509408. – DOI 10.3389/fimmu.2024.1509408.

274. Piazzi, M. Alternative Splicing, RNA Editing, and the Current Limits of Next Generation Sequencing / M. Piazzi, A. Bavelloni, S. Salucci [et al.] // Genes (Basel). – 2023. – Vol. 14, No. 7. – Art. 1386. – DOI 10.3390/genes14071386.

275. Pinto, V. Multiple Myeloma: Available Therapies and Causes of Drug Resistance / V. Pinto, R. Bergantim, H. R. Caires [et al.] // Cancers (Basel). – 2020. – Vol. 12, No. 2. – Art. 407. – DOI 10.3390/cancers12020407.

276. Piras, A. Chemical Composition, Nutritional, and Biological Properties of Extracts Obtained with Different Techniques from *Aronia melanocarpa* Berries / A. Piras, S. Porcedda, A. Smeriglio [et al.] // Molecules. – 2024. – Vol. 29, No. 11. – Art. 2577. – DOI 10.3390/molecules29112577.

277. Ponnan, A. Protective effects of fucoidan against 4-nitroquinolin-1-oxide provoked genetic damage in mouse bone marrow cells / A. Ponnan, A. Kulanthaiyesu, M. Marudhamuthu [et al.] // Environmental science and pollution re-

search international. – 2020. – Vol. 27, No. 25. – P. 31760–31766. – DOI 10.1007/s11356-020-09472-y.

278. Postow, M. A. Immune-related adverse events associated with immunecheckpoint blockade / M. A. Postow, R. Sidlow, M. D. Hellmann // New England Journal of Medicine. – 2018. – Vol. 378, No. 2. – P. 158–168. – DOI 10.1056/NEJMra1703481.

279. Powles, T. Efficacy and safety of durvalumab in locally advanced or metastatic urothelial carcinoma. Updated results from a phase 1/2 open-label study / T. Powles, P. O'Donnell, C. Massard [et al.] // JAMA Oncology. – 2017. – Vol. 3, No. 9. – Art. e172411. – DOI 10.1001/jamaoncol.2017.2411.

280. Qin, B. An extract of chokeberry attenuates weight gain and modulates insulin, adipogenic and inflammatory signalling pathways in epididymal adipose tissue of rats fed a fructose-rich diet / B. Qin, R. A. Anderson // British Journal of Nutrition. – 2012. – Vol. 108, No. 4. – P. 581–587. – DOI 10.1017/S000711451100599X.

281. Radford, M. Restrictive versus liberal red blood cell transfusion strategies for people with haematological malignancies treated with intensive chemotherapy or radiotherapy, or both, with or without haematopoietic stem cell support / M. Radford, L. J. Estcourt, E. Sirotich [et al.] // Cochrane Database of Systematic Reviews. – 2024. – Vol. 5, No. 5. – Art. CD011305. – DOI 10.1002/14651858.CD011305.pub3.

282. Ramos, S. Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention / S. Ramos // Journal of Nutritional Biochemistry. – 2007. – Vol. 18, No. 7. – P. 427–442. – DOI 10.1016/j.jnutbio.2006.11.004.

283. Ren, Y. Potential Benefits of Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) Fruits and Their Constituents in Improving Human Health / Y. Ren, T. Frank, G. Meyer [et al.] // Molecules. – 2022. – Vol. 27, No. 22. – Art. 7823. – DOI 10.3390/molecules27227823.

284. Rohwer, N. Hypoxia-mediated drug resistance: novel insights on the functional interaction of HIFs and cell death pathways / N. Rohwer, T. Cramer //

Drug Resistance Updates. – 2011. – Vol. 14, No. 3. – P. 191–201. – DOI 10.1016/j.drup.2011.03.001.

285. Rugina, D. Chokeberry Anthocyanin Extract as Pancreatic β-Cell Protectors in Two Models of Induced Oxidative Stress / D. Rugina [et al.] // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2015. – Vol. 2015. – Art. 429075. – DOI 10.1155/2015/429075.

286. Saito, T. Anemia Is a Novel Predictive Factor for the Onset of Severe Chemotherapy-Induced Peripheral Neuropathy in Lymphoma Patients Receiving Rituximab Plus Cyclophosphamide, Doxorubicin, Vincristine, and Prednisolone Therapy / T. Saito, A. Okamura, J. Inoue [et al.] // Oncology Research. – 2019. – Vol. 27, No. 4. – P. 469–474. – DOI 10.3727/096504018X15267574931782.

287. Sakamuri, D. Phase I dose-escalation study of anti-CTLA-4 antibody ipilimumab and lenalidomide in patients with advanced cancers / D. Sakamuri, I. C. Glitza, S. L. Betancourt Cuellar [et al.] // Molecular Cancer Therapeutics. – 2018. – Vol. 17, No. 3. – P. 671–676. – DOI 10.1158/1535-7163.MCT-17-0673.

288. Saleem, S. Contemporaneous and upcoming trends in immunotherapy for prostate cancer: review / S. Saleem, A. B. Rashid, S. Shehzadi [et al.] // Annals of medicine and surgery. – 2023. – Vol. 85, No. 8. – P. 4005–4014. – DOI 10.1097/MS9.0000000000001070.

289. Salih, S. Radiopharmaceutical Treatments for Cancer Therapy, Radionuclides Characteristics, Applications, and Challenges / S. Salih, A. Alkatheeri, W. Alomaim [et al.] // Molecules. – 2022. – Vol. 27, No. 16. – Art. 5231. – DOI 10.3390/molecules27165231.

290. Salvarini, C. The role of interleukine-1, erythropoietin and red cell bound immunoglobulins in the anemia of rheumatoid arthritis / C. Salvarini, B. Casali, D. Salvo [et al.] // Clinical and Experimental Rheumatology. – 2000. – Vol. 9, No. 3. – P. 241–246.

291. Sarv, V. The Sorbus spp.-Underutilised Plants for Foods and Nutraceuticals: Review on Polyphenolic Phytochemicals and Antioxidant Potential

/ V. Sarv, P. R. Venskutonis, R. Bhat // Antioxidants (Basel). – 2020. – Vol. 9, No. 9. – Art. 813. – DOI 10.3390/antiox9090813.

292. Sarv, V. Antioxidants Characterization of the Fruit, Juice, and Pomace of Sweet Rowanberry (*Sorbus aucuparia* L.) Cultivated in Estonia / V. Sarv, P. R. Venskutonis, R. Rätsep [et al.] // Antioxidants (Basel). – 2021. – Vol. 10, No. 11. – Art. 1779. – DOI 10.3390/antiox10111779.

293. Saunoriūtė, S. Amelanchier Medik. Species: An Underutilized Source of Bioactive Compounds with Potential for Pharmacological and Nutraceutical Applications / S. Saunoriūtė, J. Sukackas, L. Raudonė // Molecules. – 2025. – Vol. 30, No. 17. – Art. 3562. – DOI 10.3390/molecules30173562.

294. Sawaki, M. Adjuvant trastuzumab without chemotherapy for treating early HER2-positive breast cancer in older patients: A propensity score-adjusted analysis of a prospective cohort study / M. Sawaki, N. Taira, Y. Uemura [et al.] // Breast. – 2022. – Vol. 66. – P. 245–254. – DOI 10.1016/j.breast.2022.10.017.

295. Scibiorek, M. IL-4Rα signalling in B cells and T cells play differential roles in acute and chronic atopic dermatitis / M. Scibiorek, N. Mthembu, S. Mangali [et al.] // Scientific Reports. – 2023. – Vol. 13, No. 1. – Art. 144. – DOI 10.1038/s41598-022-26637-6.

296. Settakorn, K. Effects of green tea extract treatment on erythropoiesis and iron parameters in iron-overloaded β-thalassemic mice / K. Settakorn, S. Kongkarnka, A. Chompupoung [et al.] // Frontiers in Physiology. – 2022. – Vol. 13. – Art. 1053060. – DOI 10.3389/fphys.2022.1053060.

297. Shahin, L. *Aronia* (Chokeberry): an underutilized, highly nutraceutical plant / L. Shahin, S. S. Phaal, B. N. Vaidya [et al.] // Journal of Applied Research. – 2019. – Vol. 8, No. 4. – P. 46–63.

298. Shakhzadova, A. O. Methodological approaches to assessing incidence, survival, and mortality rates in breast cancer in the Russian Federation / A. O. Shakhzadova, V. V. Starinsky, I. V. Lisichnikova // Journal P.A. Herzen Journal of Oncology. – 2024. – Vol. 13, No. 1. – P. 36–43. – DOI 10.17116/onkolog20241301136. – (На русском яз.).

299. Sharif, T. *Aronia Melanocarpa* Juice Induces a Redox-Sensitive p73-Related Caspase 3-Dependent Apoptosis in Human Leukemia Cells / T. Sharif, M. Alhosin, C. Auger [et al.] // PLoS ONE. – 2012. – Vol. 7, No. 3. – Art. e32526. – DOI 10.1371/journal.pone.0032526.

300. Sharma, P. Nivolumab in metastatic urothelial carcinoma after platinum therapy (CheckMate 275): a multicentre, single-arm, phase 2 trial / P. Sharma, M. Retz, A. Seifker-Radtke [et al.] // Lancet Oncology. – 2017. – Vol. 18, No. 3. – P. 312–322. – DOI 10.1016/S1470-2045(17)30065-7.

301. Shaw, P. G. Integrated proteomic and metabolic analysis of breast cancer progression / P. G. Shaw, R. Chaerkady, T. Wang [et al.] // PLoS One. – 2013. – Vol. 8, No. 9. – Art. e76220. – DOI 10.1371/journal.pone.0076220.

302. Shetti, A. Antioxidants: enhancing oral and general health / A. Shetti, V. Keluskar, A. Aggarwal // Journal of Indian Academy of Oral Medicine and Radiology. – 2009. – Vol. 21, No. 1. – P. 1–6. – DOI 10.4103/0972-1363.57770.

303. Shi, R. Hypoxia-Driven Effects in Cancer: Characterization, Mechanisms, and Therapeutic Implications / R. Shi, C. Liao, Q. Zhang // Cells. – 2021. – Vol. 10, No. 3. – Art. 678. – DOI 10.3390/cells10030678.

304. Shih, P. H. Effects of anthocyanins on the inhibition of proliferation and induction of apoptosis in human gastric adenocarcinoma cells / P. H. Shih, C. T. Yeh, G. C. Yen // Food and Chemical Toxicology. – 2005. – Vol. 43, No. 11. – P. 1557–1566. – DOI 10.1016/j.fct.2005.04.010.

305. Shih, P. H. Anthocyanins induce the activation of phase II enzymes through the antioxidant response element pathway against oxidative stress-induced apoptosis / P. H. Shih, C. T. Yeh, G. C. Yen // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2007. – Vol. 55, No. 23. – P. 9427–9435. – DOI 10.1021/jf071933i.

306. Sikora, J. Short-term supplementation with *Aronia melanocarpa* extract improves platelet aggregation, clotting, and fibrinolysis in patients with metabolic syndrome / J. Sikora, M. Broncel, M. Markowicz [et al.] // European Journal

of Nutrition. – 2012. – Vol. 51, No. 5. – P. 549–556. – DOI 10.1007/s00394-011-0238-8.

307. Silva, R. M. G. D. Antioxidant, antitumoral, antimetastatic effect and inhibition of collagenase enzyme activity of *Eleutherine bulbosa* (Dayak onion) extract: *In vitro, in vivo* and *in silico* approaches / R. M. G. D. Silva, C. P. Alves, F. C. Barbosa [et al.] // Journal of Ethnopharmacology. – 2023. – Vol. 317. – Art. 116852. – DOI 10.1016/j.jep.2023.116852.

308. Sinder, B. P. Macrophages: Their Emerging Roles in Bone / B. P. Sinder, A. R. Pettit, L. K. McCauley // Journal of Bone and Mineral Research. – 2015. – Vol. 30, No. 12. – P. 2140–2149. – DOI 10.1002/jbmr.2735.

309. Sindhi, V. Potential applications of antioxidants–a review / V. Sindhi, V. Gupta, K. Sharma [et al.] // Journal of Pharmaceutical Research International. – 2013. – Vol. 7, No. 9. – P. 828–835. – DOI 10.1016/j.jopr.2013.10.001.

310. Skupien, K. In vitro antileukaemic activity of extracts from chokeberry (*Aronia melanocarpa* [Michx) Elliott.) and mulberry (*Morus alba* L.) leaves against sensitive and multidrug resistant HL60 cells / K. Skupien, D. Kostrzewa-Nowak, J. Oszmianski, J. Tarasiuk // Phytotherapy Research. – 2008. – Vol. 22, No. 6. – P. 689–694. – DOI 10.1002/ptr.2356.

311. Smart, E. Chemotherapy drugs cyclophosphamide, cisplatin and doxorubicin induce germ cell loss in an *in vitro* model of the prepubertal testis / E. Smart, F. Lopes, S. Rice [et al.] // Scientific Reports. – 2018. – Vol. 8, No. 1. – Art. 1773. – DOI 10.1038/s41598-018-19761-9.

312. Sołtys, A. Ethnopharmacologically important but underestimated genus *Sorbus*: A comprehensive review / A. Sołtys, A. Galanty, I. Podolak // Phytochemistry Reviews. – 2020. – Vol. 19, No. 2. – P. 491–526. – DOI 10.1007/s11101-020-09674-9.

313. Spivak, J. L. Anemia management in oncology and hematology / J. L. Spivak, P. Gascón, H. Ludwig // Oncologist. – 2009. – Vol. 14, No. 1. – P. 43–56. – DOI 10.1634/theoncologist.2009-0019.

314. Sprauten, M. Impact of long-term serum platinum concentrations on neuro- and ototoxicity in Cisplatin-treated survivors of testicular cancer / M. Sprauten, T. H. Darrah, D. R. Peterson [et al.] // Journal of Clinical Oncology. – 2012. – Vol. 30, No. 3. – P. 300–307. – DOI 10.1200/JCO.2011.37.4025.

315. Sreedharan, S. Protective Role of Polyphenols from Aronia Berry (*Aronia melanocarpa*) Against LPS-Induced Inflammation in Colon Cells and Macrophages / S. Sreedharan, V. Nair, P. Bhargava [et al.] // Nutrients. – 2025. – Vol. 17, No. 10. – Art. 1652. – DOI 10.3390/nu17101652.

316. Sreenivasan, S. Advances in Targeted and Systemic Therapy for Salivary Gland Carcinomas: Current Options and Future Directions / S. Sreenivasan, R. A. Jiwani, R. White [et al.] // Current Oncology. – 2025. – Vol. 32, No. 4. – Art. 232. – DOI 10.3390/curroncol32040232.

317. Steffen, Y. Mono-O-methylated flavanols and other flavonoids as inhibitors of endothelial NADPH oxidase / Y. Steffen, C. Gruber, T. Schewe, H. Sies // Archives of Biochemistry and Biophysics. – 2008. – Vol. 469, No. 2. – P. 209–219. – DOI 10.1016/j.abb.2007.10.012.

318. Suggitt, M. 50 years of preclinical anticancer drug screening: empirical to target-driven approaches / M. Suggitt, M. C. Bibby // Clinical Cancer Research. – 2005. – Vol. 11, No. 3. – P. 971–981. – PMID: 15709162.

319. Sugiure, K. The Effect of Phosphoramides on the Growth of a Variety of Mouse and Rat Tumors / K. Sugiure, C. Stock // Cancer Research. – 1955. – Vol. 15, No. 1. – P. 38–51.

320. Sun, W. Therapeutic Potential of Phenolic Compounds in Medicinal Plants–Natural Health Products for Human Health / W. Sun, M.H. Shahrajabian // Molecules. – 2023. – Vol. 28, No. 4. – Art. 1845. – DOI 10.3390/molecules28041845.

321. Surh, Y. J. Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals / Y.J. Surh // Nature Reviews Cancer. – 2003. – Vol. 3, No. 10. – P. 768–780. – DOI 10.1038/nrc1189.

322. Swanson, L. TLR4 signaling and macrophage inflammatory responses are dampened by GIV/Girdin / L. Swanson, G0.D. Katkar, J. Tam [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2020. – Vol. 117, No. 43. – P. 26895–26906. – DOI 10.1073/pnas.2011667117.

323. Tamayo-Vives, C. Crataegus monogyna Jacq., *Sorbus aria* (L.) Crantz and *Prunus spinosa* L.: From Edible Fruits to Functional Ingredients: A Review / C. Tamayo-Vives, M. Úbeda, P. Morales [et al.] // Foods. – 2025. – Vol. 14, No. 13. – Art. 2299. – DOI 10.3390/foods14132299.

324. Tang, Z. Quercetin reverses 5-fluorouracil resistance in colon cancer cells by modulating the NRF2/HO-1 pathway / Z. Tang, L. Wang, Y. Chen [et al.] // European Journal of Histochemistry. – 2023. – Vol. 67, No. 3. – Art. 3719. – DOI 10.4081/ejh.2023.3719.

325. Tetterton-Kellner, J. Navigating cancer therapy induced cardiotoxicity: From pathophysiology to treatment innovations / J. Tetterton-Kellner, B. C. Jensen, J. Nguyen // Advanced Drug Delivery Reviews. – 2024. – Vol. 211. – Art. 115361. – DOI 10.1016/j.addr.2024.115361.

326. Tikhonova, M. A. Antitumor Effects of an Anthocyanin-Rich Grain Diet in a Mouse Model of Lewis Lung Carcinoma / M. A. Tikhonova, O. Y. Shoeva, M. V. Tenditnik [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2024. – Vol. 25, No. 11. – Art. 5727. – DOI 10.3390/ijms25115727.

327. Toda, S. MerTK-mediated engulfment of pyrenocytes by central macrophages in erythroblastic islands / S. Toda, K. Segawa, S. Nagata // Blood. – 2014. – Vol. 123, No. 25. – P. 3963–3971. – DOI 10.1182/blood-2014-01-547976.

328. Tolić, M.-T. Effects of Weather Conditions on Phenolic Content and Antioxidant Capacity in Juice of Chokeberries (*Aronia Melanocarpa* L.) / M.-T. Tolić, I. P. Krbavčić, P. Vujević [et al.] // Polish Journal of Food and Nutrition Sciences. – 2017. – Vol. 67, No. 1. – P. 67–74. – DOI 10.1515/pjfns-2016-0009.

329. Toufektsian, M. Chronic dietary intake of plant-derived anthocyanins protects the rat heart against ischemia-reperfusion injury / M. Toufektsian,

M. D. Lorgeril, N. Nagy [et al.] // Journal of Nutrition. – 2008. – Vol. 138, No. 4. – P. 747–752. – DOI 10.1093/jn/138.4.747.

330. Trajkovska, M. Natural Phenolic Acids as Effective Bulk Oil Antioxidants: Oxidative Stability Modeling Using Olive Kernel Oil as a Case Study / M. Trajkovska, F. Derwiche, S. Grigorakis, D. P. Makris // Applied Sciences. – 2024. – Vol. 14, No. 15. – Art. 6508. – DOI 10.3390/app14156508.

331. Turumtay, H. Gram (-) microorganisms DNA polymerase inhibition, antibacterial and chemical properties of fruit and leaf extracts of *Sorbus acuparia* and *Sorbus caucasica* var. yaltirikii / H. Turumtay, A. Midilli, E. A. Turumtay [et al.] // Biomedical Chromatography. – 2017. – Vol. 31, No. 6. – Art. e3901. – DOI 10.1002/bmc.3901.

332. Van Laere, C. Terbium radionuclides for theranostic applications in nuclear medicine: from atom to bedside / C. Van Laere, M. Koole, C. M. Deroose [et al.] // Theranostics. – 2024. – Vol. 14, No. 4. – P. 1720–1743. – DOI 10.7150/thno.92775.

333. Vamvakas, E. C. Long-term survival after blood transfusion / E. C. Vamvakas, H. F. Taswell // Transfusion. – 1994. – Vol. 34, No. 6. – P. 471–477. – DOI 10.1046/j.1537-2995.1994.34694295058.x.

334. Vaupel, P. Hypoxia and aggressive tumor phenotype: implications for therapy and prognosis / P. Vaupel // Oncologist. – 2008. – Vol. 13, Suppl. 3. – P. 21–26. – DOI 10.1634/theoncologist.13-S3-21.

335. Votavova, H. Hypoplastic myelodysplastic syndrome and acquired aplastic anemia: Immune mediated bone marrow failure syndromes (Review) / H. Votavova, M. Belickova // International Journal of Oncology. – 2022. – Vol. 60, No. 1. – Art. 7. – DOI 10.3892/ijo.2021.5297.

336. Waltzman, R. Randomized comparison of epoetin alfa (40,000 U weekly) and darbepoetin alfa (200 microg every 2 weeks) in anemic patients with cancer receiving chemotherapy / R. Waltzman, C. Croot, R. Glen Justice [et al.] // Oncologist. – 2005. – Vol. 10, No. 8. – P. 642–650. – DOI 10.1634/theoncologist.10-8-642.

337. Wang, J. Expansion of EPOR-negative macrophages besides erythroblasts by elevated EPOR signaling in erythrocytosis mouse models / J. Wang, Y. Hayashi, A. Yokota [et al.] // Haematologica. – 2018. – Vol. 103, No. 1. – P. 40–50. – DOI 10.3324/haematol.2017.172775.

338. Wang, L. S. Anthocyanins in black raspberries prevent esophageal tumors in rats / L. S. Wang, S. S. Hecht, S. G. Carmella [et al.] // Cancer prevention research (Philadelphia). – 2009. – Vol. 2, No. 1. – P. 84–93. – DOI 10.1158/1940-6207.CAPR-08-0175.

339. Wang, N. Senescent cells promote breast cancer cells motility by secreting GM-CSF and bFGF that activate the JNK signaling pathway / N. Wang, Y. Fang, Y. Hou [et al.] // Cell Communication and Signaling. – 2024. – Vol. 22, No. 1. – Art. 478. – DOI 10.1186/s12964-024-01861-x.

340. Wang, X. Flavonoids and saponins: What have we got or missed? / X. Wang, Y. Ma, Q. Xu [et al.] // Phytomedicine. – 2023. – Vol. 109. – Art. 154580. – DOI 10.1016/j.phymed.2022.154580.

341. Wang, Y. Antioxidant Activity and Subcritical Water Extraction of Anthocyanin From Raspberry Process Optimization by Response Surface Methodology / Y. Wang, Y. Ye, L. Wang [et al.] // Food Bioscience. – 2021. – Vol. 44. – Art. 101390. – DOI 10.1016/j.fbio.2021.101390.

342. Wang, J. Antioxidant Activity and Structural Characterization of Anthocyanin-Polysaccharide Complexes from *Aronia melanocarpa* / J. Wang, J. Wang, J. Hao [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2024. – Vol. 25, No. 24. – Art. 13347. – DOI 10.3390/ijms252413347.

343. Wassie, M. Prevalence and associated factors of baseline anemia among cervical cancer patients in Tikur Anbesa Specialized Hospital, Ethiopia / M. Wassie, A. Aemro, B. Fentie // BMC Womens Health. – 2021. – Vol. 21, No. 1. – Art. 36. – DOI 10.1186/s12905-021-01185-9.

344. Webb, M. R. Anthocyanin interactions with DNA: Intercalation, topoisomerase I inhibition and oxidative reactions / M. R. Webb, K. Min,

S. E. Ebeler // Journal of Food Biochemistry. – 2008. – Vol. 32, No. 5. – P. 576–596. – DOI 10.1111/j.1745-4514.2008.00183.x.

345. Whitehead, V. M. Acquired and inherited disorders of cobalamin and folate in children / V. M. Whitehead // British Journal of Haematology. – 2006. – Vol. 134, No. 2. – P. 125–136. – DOI 10.1111/j.1365-2141.2006.06133.x.

346. Woiniak, A. The effect of antitumor drugs on oxidative stress in B16 and S91 melanoma cells in vitro / A. Woiniak, G. Drewa, B. Wozniak [et al.] // Medical Science Monitor . – 2005. – Vol. 11, No. 1. – P. BR22–BR29.

347. Wu, J. Programmable ROS-Mediated Cancer Therapy via Magneto-Inductions / J. Wu, P. Ning, R. Gao [et al.] // Advanced Science (Weinh). – 2020. – Vol. 7, No. 12. – Art. 1902933. – DOI 10.1002/advs.201902933.

348. Xie, Q. Cellular mechanisms of combining innate immunity activation with PD-1/PD-L1 blockade in treatment of colorectal cancer / Q. Xie, X. Liu, R. Liu [et al.] // Molecular Cancer. – 2024. – Vol. 23, No. 1. – Art. 252. – DOI 10.1186/s12943-024-02166-w.

349. Xu, D. P. Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants: Extraction, Assessment and Resources / D. P. Xu, Y. Li, X. Meng [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2017. – Vol. 18, No. 1. – Art. 96. – DOI 10.3390/ijms18010096.

350. Xu, M. Cyanidin-3-glucoside inhibits ethanol-induced invasion of breast cancer cells overexpressing ErbB2 / M. Xu, K. A. Bower, S. Wang [et al.] // Molecular Cancer. – 2010. – Vol. 9. – Art. 285. – DOI 10.1186/1476-4598-9-285.

351. Yang, M. A review of recent advances on cyanidin-3-glucoside: the biotransformation, absorption, bioactivity and applications of nano-encapsulation / M. Yang, Abdullah, N. Ahmad [et al.] // Food & Function. – 2023. – Vol. 14, No. 14. – P. 6320–6345. – DOI 10.1039/d2fo03824b.

352. Yao, Q. Peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPARγ) induces the gene expression of integrin αVβ5 to promote macrophage M2 polarization / Q. Yao, N. Liu, Z. Zhang [et al.] // Journal of Biological Chemistry. – 2018. – Vol. 293, No. 43. – P. 16572–16582. – DOI 10.1074/jbc.RA118.003161.

353. Yi, M. Exploiting innate immunity for cancer immunotherapy / M. Yi, T. Li, M. Niu [et al.] // Molecular Cancer. – 2023. – Vol. 22, No. 1. – Art. 187. – DOI 10.1186/s12943-023-01885-w.

354. Yu, T. Anti-inflammatory activity of *Sorbus commixta* water extract and its molecular inhibitory mechanism / T. Yu, Y. J. Lee, H. J. Jang [et al.] // Journal of Ethnopharmacology. – 2011. – Vol. 134, No. 2. – P. 493–500. – DOI 10.1016/j.jep.2010.12.032.

355. Yudina, R. S. Anthocyanins as functional food components / R. S. Yudina, E. I. Gordeeva, O. Yu. Shoeva [et al.] // Vavilov Journal of Genetics and Breeding. – 2021. – Vol. 25, No. 2. – P. 178–189. – DOI 10.18699/VJ21.022. – (На русском яз.).

356. Zeppilli, D. The Role of Chalcogen in the ROS Scavenging Mechanism of Model Phenyl Compounds / D. Zeppilli, V. Pedergnana, M. Filippi, L. Orian // Molecules. – 2025. – Vol. 30, No. 7. – Art. 1408. – DOI 10.3390/molecules30071408.

357. Zhao, X. C. Acquired aplastic anemia: Is bystander insult to autologous hematopoiesis driven by immune surveillance against malignant cells? / X. C. Zhao, X. Y. Sun, B. Ju [et al.] // World journal of stem cells. – 2020. – Vol. 12, No. 11. – P. 1429–1438. – DOI 10.4252/wjsc.v12.i11.1429.

358. Zhang, H. Molecular insight into pentraxin-3: Update advances in innate immunity, inflammation, tissue remodeling, diseases, and drug role / H. Zhang, R. Wang, Z. Wang [et al.] // Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2022. – Vol. 156. – Art. 113783. – DOI 10.1016/j.biopha.2022.113783.

359. Zhang, L. Lysozyme 1 Inflamed CCR2+ Macrophages Promote Obesity-Induced Cardiac Dysfunction / L. Zhang, H. Han, A. Xu [et al.] // Circulation Research. – 2024. – Vol. 135, No. 5. – P. 596–613. – DOI 10.1161/CIRCRESAHA.124.324106.

360. Zhang, X. Cetuximab inhibits colorectal cancer development through inactivating the Wnt/β-catenin pathway and modulating PLCB3 expression /

X. Zhang, W. Zhou, C. Wu [et al.] // Scientific Reports. – 2024. – Vol. 14, No. 1. – Art. 10642. – DOI 10.1038/s41598-024-59676-2.

361. Zhou, D. Reactive oxygen species in normal and tumor stem cells / D. Zhou, L. Shao, D. R. Spitz // Advances in Cancer Research. – 2014. – Vol. 122. – P. 1–67. – DOI 10.1016/B978-0-12-420117-0.00001-3.

362. Zhou, L. miR-3133 inhibits gastrointestinal cancer progression through activation of Hippo and p53 signalling pathways via multi-targets / L. Zhou, H. Guo, Q. Liao [et al.] // Journal of Cellular and Molecular Medicine. – 2023. – Vol. 27, No. 17. – P. 2459–2473. – DOI 10.1111/jcmm.17880.

363. Zhu, L. Toll-Like Receptors Mediate Opposing Dendritic Cell Effects on Treg/Th17 Balance in Mice With Intracerebral Hemorrhage / L. Zhu, J. Shang, Y. Li [et al.] // Stroke. – 2024. – Vol. 55, No. 8. – P. 2126–2138. – DOI 10.1161/STROKEAHA.124.046394.

364. Zielińska, A. Anti-Atherosclerotic Properties of *Aronia melanocarpa* Extracts Influenced by Their Chemical Composition Associated with the Ripening Stage of the Berries / A. Zielińska, D. Bryk, K. Paradowska [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2024. – Vol. 25, No. 8. – Art. 4145. – DOI 10.3390/ijms25084145.

365. Zimmerman, R. Posttransfusion Increase of Hematocrit per se Does Not Improve Circulatory Oxygen Delivery due to Increased Blood Viscosity / R. Zimmerman, A. G. Tsai, B. Y. S. Vázquez [et al.] // Anesthesia & Analgesia. – 2017. – Vol. 124, No. 5. – P. 1547–1554. – DOI 10.1213/ANE.0000000000001991.

366. Zivot, A. Erythropoiesis: insights into pathophysiology and treatments in 2017 / A. Zivot, J. M. Lipton, A. Narla [et al.] // Molecular Medicine. – 2018. – Vol. 24, No. 1. – Art. 11. – DOI 10.1186/s10020-018-0011-z.

367. Zueva, A. O. Production of high- and low-molecular weight fucoidan fragments with defined sulfation patterns and heightened in vitro anticancer activity against TNBC cells using novel endo-fucanases of the GH107 family /

A. O. Zueva, A. S. Silchenko, A. B. Rasin [et al.] // Carbohydrate Polymers. – 2023. – Vol. 318. – Art. 121128. – DOI 10.1016/j.carbpol.2023.121128.

368. Zymone, K. Phytoprofiling of Sorbus L. Inflorescences: A Valuable and Promising Resource for Phenolics / K. Zymone, L. Raudone, V. Žvikas [et al.] // Plants. – 2022. – Vol. 11, No. 24. – Art. 3421. – DOI 10.3390/plants11243421.