

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Национальный медицинский исследовательский центр онкологии  
имени Н.Н. Петрова»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

СЕМЕНОВ  
АЛЕКСАНДР ЛЕОНИДОВИЧ

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

Специальность: 14.01.12 – онкология

Диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент Владимир Григорьевич Беспалов

Санкт-Петербург

2019

## Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1. Эпидемиологические данные отсроченных эффектов радиационных воздействий.....	13
1.2. Канцерогенная опасность использования радиации в медицине.....	19
1.3. Средства, ингибирующие лучевой канцерогенез.....	21
1.4. Применение средств, ингибирующих лучевой канцерогенез, при аварийных радиационных воздействиях.....	27
1.5. Биохимические маркеры предсказания развития опухолей вызванных радиацией.....	28
1.6. Требования к материалу для анализа и методам определения предиктивных маркеров возникновения опухолей.....	33
1.7. Антиканцерогенная активность и механизмы действия исследуемых препаратов.....	35
ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	40
2.1. Животные, их содержание и использование.....	40
2.2. Схема эксперимента.....	43
2.3. Индукция радиационного канцерогенеза.....	43
2.4. Используемые препараты.....	44
2.5. Рандомизация животных, формирование экспериментальных групп.....	45
2.6. Методика оценки нарушения структуры ДНК клеток крови.....	46
2.7. Аутопсия и гистологическая обработка тканей.....	47
2.8. Порядок вскрытия и оценка органов.....	48
2.9. Методика гистологического исследования.....	48
2.10. Методы оценки влияния препаратов на радиационный канцерогенез.....	50
2.11. Статистическая обработка результатов.....	50

ГЛАВА III. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	52
3.1. Гибель животных до выявления первой опухоли в эксперименте.....	52
3.2. Выживаемость животных в контрольных группах.....	52
3.3. Спонтанное развитие опухолей у интактных животных.....	53
3.4. Влияние $\gamma$ -облучения на выживаемость и канцерогенез у самок крыс.....	55
3.5. Основные гистологические типы новообразований у крыс, подвергнутых воздействию $\gamma$ -излучения.....	59
3.6. Влияние $\alpha$ -дифторметилорнитина на радиационный канцерогенез у самок крыс.....	69
3.7. Влияние настойки корня элеутерококка колючего на радиационный канцерогенез у самок крыс.....	72
3.8. Влияние отвара цветков лабазника вязолистного на радиационный канцерогенез у самок крыс.....	75
3.9. Влияние настойки корня левзеи сафлоровидной на радиационный канцерогенез у самок крыс.....	78
3.10. Влияние настойки корня женьшеня обыкновенного на радиационный канцерогенез у самок крыс.....	81
3.11. Влияние $\alpha$ -дифторметилорнитина, настойки корня элеутерококка колючего и настойки корня левзеи сафлоровидной на изменения индекса ДНК клеток крови облученных крыс.....	85
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	88
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	107
ВЫВОДЫ.....	108
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	110
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	111
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	112

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность проблемы**

Человек может подвергаться воздействию ионизирующего излучения в различных областях. Достаточно большое количество профессий связаны с потенциальным воздействием радиации: медицинские работники, выполняющие диагностические и лечебные процедуры с использованием ионизирующего излучения, экипажи самолетов, работники шахт глубокого залегания, работники атомной промышленности [149]. Одним из наиболее опасных отдаленных последствий воздействия ионизирующего излучения является возникновение злокачественных новообразований. У жителей Хиросимы и Нагасаки, переживших атомную бомбардировку, наблюдалось повышение частоты новообразований большинства локализаций в отдаленные сроки после облучения [135]. Среди проживающих на загрязненных в результате Чернобыльской аварии областях зафиксировано возрастание частоты лейкозов и рака щитовидной железы [108]. В случае применения ионизирующего излучения для лечебных и диагностических целей, облучению подвергаются отдельные участки человеческого тела, что определяет возможный повышенный риск возникновения новообразований определенных локализаций [126].

Одной из мер предотвращения отдаленных онкологических последствий у людей, подвергшихся воздействию канцерогенных факторов, является использование средств для химиопрофилактики рака. Поиск таких средств проводится с 60-х годов прошлого века и является одним из актуальных направлений противораковой борьбы [1,51]. Химиопрофилактику рака определяют как торможение или задержку процесса канцерогенеза с помощью лекарственных препаратов или природных веществ. Средства для химиопрофилактики рака

должны отвечать следующим основным требованиям: способность предупреждать возникновение и развитие злокачественной опухоли определенной локализации или ряда локализаций; возможность применения в течение длительного времени; отсутствие токсических эффектов и побочных действий или минимальная токсичность; желательные дополнительные благоприятные свойства, достигаемые в более короткие сроки; лекарственные формы должны быть только пероральными [7]. Потенциально всем этим требованиям отвечают препараты на основе лекарственных растений, и, особенно, так называемые классические фитоадаптогены [34].

Если в качестве ингибиторов химически индуцированного канцерогенеза изучено большое количество различных препаратов и веществ, то торможению радиационного канцерогенеза в литературе посвящены лишь единичные публикации. Например, гиполипидемические препараты безафибрат [82] и симвастатин [81], полифенольный агент куркумин, выделенный из корневища *Curcuma longa*, оказывали антиканцерогенное действие на развитие опухолей молочной железы, индуцированных ионизирующим излучением в пренатальный период с последующей промоцией диэтилстильбэстролом у самок крыс. Низкокалорийная диета тормозила развитие опухолей различных органов у самок (в основном новообразований молочной железы) и самцов крыс, подвергнутых тотальному облучению всего тела [67]. Вместе с тем риск побочных эффектов безафибрата, симвастатина, низкокалорийной диеты при длительном применении ставит под сомнение возможность их практического использования для предупреждения отдаленных онкологических последствий ионизирующего облучения.

В качестве потенциальных ингибиторов радиационного канцерогенеза в настоящей работе были выбраны три адаптогена растительного происхождения: женьшень обыкновенный *Panax ginseng* C. A. Mey. семейства Araliaceae, элеутерококк колючий *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim. семейства Araliaceae, левзея сафлоровидная *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin семейства Asteraceae, а также лабазник *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim семейства

Rosaceae. У всех четырех растительных препаратов установлена антиканцерогенная активность. Наиболее изучен в этом отношении женьшень как в экспериментальных, так и в эпидемиологических и клинических исследованиях; антиканцерогенная активность элеутерококка и левзеи исследованы только в экспериментах. Однако способность тормозить развитие опухолей у всех четырех фитоадаптогенов показана только на моделях химически индуцированного канцерогенеза у животных.

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

В модели канцерогенеза в качестве иницирующего фактора было применено  $\gamma$ -облучение самок крыс, так как у них в сравнении с самцами ионизирующая радиация вызывает большее количество и более широкий спектр опухолей [21, 67].

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

### **Цель исследования**

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

### **Задачи исследования**

1. Дать характеристику модели вызываемого  $\gamma$ -излучением канцерогенеза у самок крыс по частоте и множественности, локализации и гистологическому

типу индуцированных опухолей, выживаемости животных и определить возможность использования модели для поиска средств химиопрофилактики радиационного канцерогенеза.

2. Оценить влияние антипролиферативного лекарственного препарата  $\alpha$ -дифторметилорнитина на индуцированный  $\gamma$ -излучением канцерогенез у самок крыс.
3. Оценить влияние биотехнологического лекарственного препарата, настойки культуры корня женьшеня обыкновенного, на индуцированный  $\gamma$ -излучением канцерогенез у самок крыс.
4. Оценить влияние лекарственного препарата, настойки элеутерококка колючего, на индуцированный  $\gamma$ -излучением канцерогенез у самок крыс.
5. Оценить влияние отвара цветков лабазника вязолистного на индуцированный  $\gamma$ -излучением канцерогенез у самок крыс.
6. Оценить влияние лекарственного препарата, настойки корневищ левзеи сафлоровидной, на индуцированный  $\gamma$ -излучением канцерогенез у самок крыс.
7. Сопоставить профилактические эффекты  $\alpha$ -дифторметилорнитина и растительных препаратов на показатели радиационного канцерогенеза.
8. Оценить влияние препаратов  $\alpha$ -дифторметилорнитина, элеутерококка колючего и левзеи сафлоровидной на пострadiационные изменения показателя генотоксичности ДНК–содержащих клеток крови животных, а также информационную значимость восстановления этого индекса через 1 месяц после облучения.

### **Научная новизна**

Экспериментальная модель радиационного канцерогенеза пригодна для изучения средств химиопрофилактики отдаленных онкологических последствий ионизирующей радиации. Изучена активность препаратов ДФМО, женьшеня обыкновенного, элеутерококка колючего, лабазника вязолистного и левзеи

сафлоровидной в качестве средств химиопрофилактики радиационного канцерогенеза в эксперименте. Проведено сравнение антиканцерогенной активности синтетического препаратаДФМО и растительных средств на модели радиационного канцерогенеза. Показана возможность использования экспериментальной технологии, основанной на определении степени восстановления ДНК крови через 1 месяц после лучевого воздействия, для предикции эффективности средств профилактики радиационного канцерогенеза.

### **Теоретическая и практическая значимость**

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



## Методология и методы исследования

В экспериментах были использованы аутбредные крысы Вистар собственной разводки НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова. Всего в диссертационном исследовании было использовано 705 половозрелых крыс–самок в возрасте 3–4 месяцев, массой тела 140–160 гр.

Животные подвергались индивидуально однократному тотальному  $\gamma$ -облучению в дозе 4 Гр на установке ИГУР–1 (137Cs, мощность дозы 1,34 Гр/мин.). Исследуемые препараты животные получали с питьевой водой. За крысами наблюдали в течение 16 месяцев. Всех павших и забитых крыс подвергали полной аутопсии.

Для анализа опухоли сгруппировали в 3 группы: молочной железы, эндокринных и репродуктивных органов, прочих локализаций. Рассчитывали частоту и множественность опухолей: общую и для каждой из трех групп. Токсикогеномные эффекты в лейкоцитах крыс оценивали с помощью экспресс–метода, который позволял с помощью флуорохрома – 4',6–диамидино–2–фенилиндола определить величину индекса ДНК (ИД) – содержания ДНК нуклеоидов в расчёте на лейкоцит. Результаты эксперимента подвергали статистической обработке на персональном компьютере с помощью программ GraphPad Prism 6, STATISTICA 10. Для статистического анализа показателей частоты и множественности использовали тест  $\chi^2$ , точный метод Фишера, критерий t (Стьюдента). Выживаемость рассчитывалась с учетом окончания эксперимента на сроке 16 мес. методом Каплана-Майера. Различия в выживаемости между периодами были оценены методом log-rank.

Большое количество животных, использовавшихся в эксперименте, обеспечивает высокий уровень достоверности полученных результатов.

### Положения, выносимые на защиту

1. Общее равномерное  $\gamma$ -облучение крыс самок в дозе 4 Гр приводит к значимому увеличению общей частоты и множественности опухолей, а также злокачественных новообразований в различных органах по сравнению с интактными животными.
2.  $\alpha$ -Дифторметилорнитин является универсальным ингибитором радиационного канцерогенеза; он значимо снижает общую частоту и множественность как всех индуцированных опухолей суммарно, так и злокачественных новообразований, исключая группу эндокринных и репродуктивных органов.
3. Настойка корня женьшеня обыкновенного (*Panax ginseng*) по выраженности ингибирующего действия на радиационный канцерогенез сравнима с действием  $\alpha$ -дифторметилорнитина; она статистически значимо снижает общую частоту и множественность всех индуцированных опухолей суммарно, в том числе злокачественных, в частности новообразований в молочной железе, органах эндокринной и репродуктивной системы, но не прочих, более редких локализаций.
4. Настойка корня элеутерококка колючего (*Eleutherococcus senticosus*) и отвар цветков лабазника вязолистного (*Fillipendula ulmaria*) по выраженности и универсальности ингибирующего действия на радиационный канцерогенез уступают  $\alpha$ -дифторметилорнитину; оба средства статистически значимо снижают частоту и/или множественность индуцированных злокачественных и доброкачественных опухолей; элеутерококк тормозит преимущественно развитие опухолей прочих локализаций, лабазник – опухолей молочной железы. Настойка корня левзеи сафлоровидной (*Rhaponticum carthamoides*) не влияет значимо на радиационный канцерогенез.
5. Через 30 сут после облучения крыс по сравнению с интактным контролем значимо повышается индекс ДНК – содержание ДНК на число лейкоцитов крови. Изменения индекса ДНК коррелируют с вариациями развивающихся

злокачественных новообразований в репродуктивных и эндокринных органах при введении облученным крысам ДФМО, элеутерококка или левзеи.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Результаты диссертационного исследования достоверны и обоснованы, что обеспечивается достаточным количеством использованных в эксперименте животных, использованием адекватных задачам работы методов исследования и статистического анализа полученных данных.

Основные положения диссертации доложены на Российской конференции "Фундаментальная онкология – Петровские чтения" 20 апреля 2012 г.; на Всероссийской конференции молодых ученых ФГБУ «НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург, 27 марта 2013 г.; VIII Съезде онкологов и радиологов СНГ и Евразии, Казань, 16–18 сентября 2014 г.; на Российской научной конференции с международным участием «Медико–биологические проблемы токсикологии и радиобиологии» 4–6 июня 2015 г. Работа удостоена почетной грамоты победителя программы «Участник Молодежного Научно–Инновационного конкурса» («У.М.Н.И.К.»).

По теме диссертации опубликовано 16 работ, из которых – 7 статьи в научных журналах, рекомендованных ВАК.

### **Личный вклад автора**

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

## **Структура и объем диссертации**

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

## ГЛАВА I

### ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Известно, что ионизирующее излучение в аварийных ситуациях, а также профессиональные и медицинские воздействия [23] радиации повышают риск возникновения опухолей [28, 75, 115].

Ионизирующую радиацию относят к факторам, канцерогенный эффект которых доказан [76]. Однако степень этой опасности может зависеть от дозы. На сегодняшний день принято представление о беспороговости канцерогенного действия радиации, хотя эпидемиологические исследования не позволяют получить количественную информацию о риске в диапазоне доз, близких к фону, оценить вероятность опухолевых заболеваний при длительном воздействии низкоинтенсивной радиации, а также учесть модифицирующее влияние многих других факторов.

#### **1.1. Эпидемиологические данные отсроченных эффектов радиационных воздействий**

По общим оценкам среди факторов окружающей среды, которые обуславливают возникновение злокачественных опухолей у человека, на долю ионизирующей радиации приходится весьма небольшая доля – не более 1–3% [17]. Однако если учесть суммарное количество случаев рака, вызванного радиацией, которое уже зарегистрировано или весьма вероятно будет выявлено, то становятся очевидны значительные масштабы этой проблемы и актуальность разработки мер профилактики. В частности, по расчетам Европейского комитета по радиационному риску (2003) в результате антропогенного ионизирующего облучения в мире за период 1946–1989 годы от злокачественных новообразований погибло не менее 60 млн человек.

В истории человечества произошло две крупномасштабных трагедии, на примере которых можно судить об онкологической опасности воздействия ионизирующей радиации на большие популяции. Наиболее детальная информация получена при проспективном изучении лиц, переживших атомную бомбардировку в Хиросиме и Нагасаки в 1945 году [116, 120]. Основная когорта состояла из 120321 жителей всех возрастов и обоего пола, из которых более чем 90 тыс. подверглась воздействию радиации (преимущественно  $\gamma$ -излучению) в различных дозах: только 2% жителей получила дозу 1 Гр и выше, но более трети – около 0,005 Гр (индивидуальная доза была рассчитана у 86611 чел.). Риск смертности от рака оценивался в превышении относительных показателей между экспонированной (93747 чел.) и неэкспонированной группами населения (26580 чел., проживавшие за пределами городов, пострадавших от атомной бомбардировки) в течение 1950–2000 годов. К 2003 году более половины лиц из этой когорты умерли. Первыми по времени появления онкологическими заболеваниями среди пораженных были лейкозы, которые регистрировались, начиная с 5 лет и максимумом через 10 лет после атомной бомбардировки только для некоторых форм (острого миелоидного лейкоза). Всего было зарегистрировано 310 случаев смертности от лейкозов [125]. Риск возникновения лейкозов был наибольшим при облучении в детском возрасте. Однако, как показали последние расчеты, риск смертности от лейкозов, обусловленный радиацией, сохранялся на протяжении 50 лет.

Среди лиц из основной когорты выявлено 17448 случаев солидных опухолей различной локализации [120]. Установлено, что среди облученных в дозе, превышающей 0,005 Гр, только 850 случаев рака (около 11%) были обусловлены радиацией после атомного взрыва. Частота возникновения солидных новообразований от дозы облучения характеризовалась линейной зависимостью, которая была статистически значимой при достаточно широком уровне доз. Степень риска, рассчитанная по избыточному относительному риску (ИОР), не одинакова в отношении опухолей различной локализации (рисунок 1.1). Высокий риск определен для опухолей мочевого пузыря, молочной железы, легких, центральной нервной системы, яичников, щитовидной железы, толстого

кишечника, пищевода, ротовой полости, желудка, печени и кожи (без меланом), тогда как он низок для опухолей почки, поджелудочной железы, прямой кишки, предстательной железы, матки и желчного пузыря. Возраст в момент радиационного воздействия является важным фактором реализации онкологического риска. У облученных в детском возрасте риск был более высоким для возникновения опухолей щитовидной железы, кожи, молочной железы и головного мозга, но наблюдалась тенденция к снижению возникновения опухолей легких [116, 120]. Неоднозначные заключения были получены о модифицирующем влиянии курения на проявления канцерогенного риска от радиации: у экспонированных «умеренных» субъектов–курильщиков (до 10 сигарет/день) он явно повышался, но у заядлых курильщиков (более 20 сигарет/день) возрастание риска не выявлялось [63].

Другим трагическим событием, повлекшим за собой облучение большой популяции, была авария на Чернобыльской АЭС в 1986 году. В результате взрывов реактора высокорadioактивные вещества были разнесены ветром на большой территории, главным образом, в Беларусь, Украину и Россию. Влияние этих выбросов на здоровье пострадавшего населения представлено в докладах НКДАР [29] и ВОЗ [14,15]. Наибольшую дозу облучения получили ликвидаторы, работавшие вокруг разрушенного реактора в течение первых двух лет после аварии (240 000 выживших, которые получили более 100 мЗв). Довольно высокую дозу получили также эвакуированные сразу после аварии (116 000), и население сильно загрязненных районов (270 000). Их дозы облучения составили более 33–50 мЗв, а у некоторых групп – около 100 мЗв. Люди, которые проживают в настоящее время в малозагрязненных районах (порядка 5 млн человек) продолжают получать небольшие дозы выше уровней естественного фона 10–20 мкР/час (2,4 мЗв/год), но эти уровни находятся в диапазоне близком к фоновым дозам.

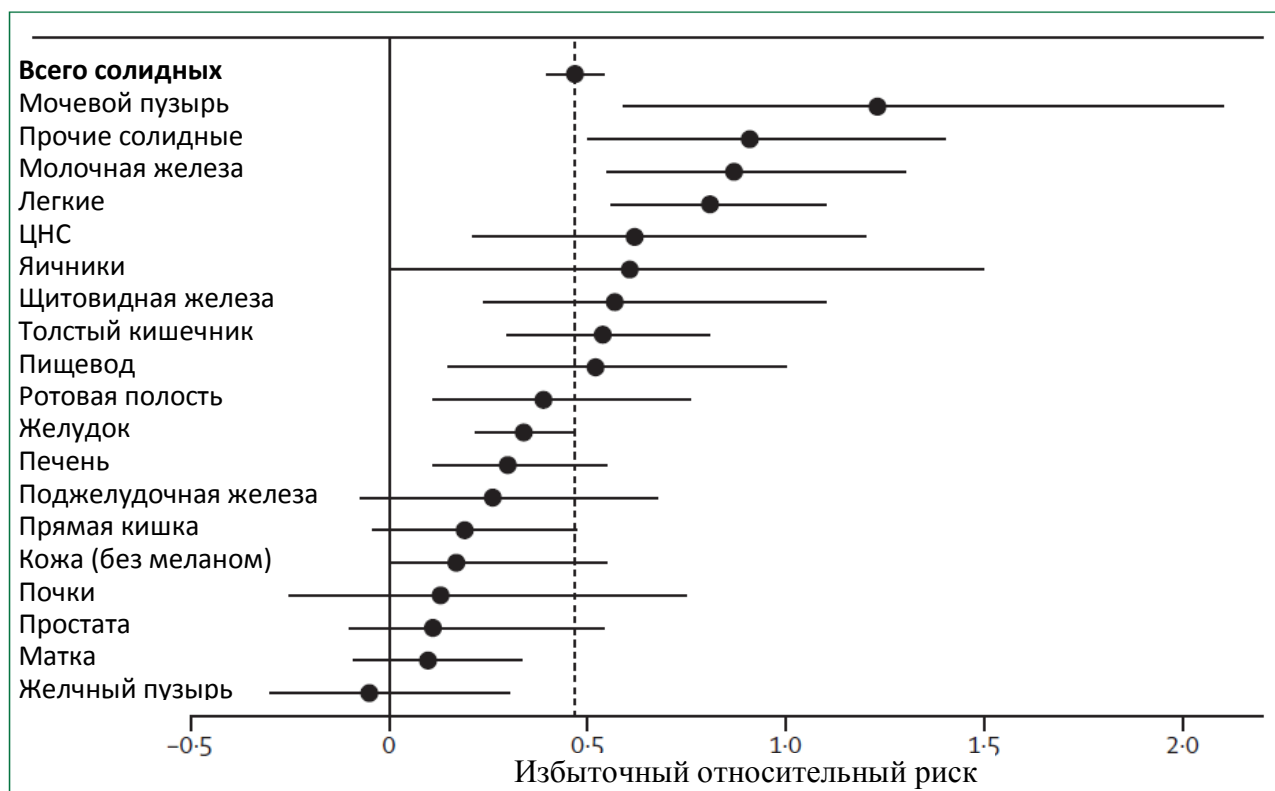


Рисунок 1.1. Избыточный относительный риск в расчете на дозу радиации (Гр) для возникновения опухолей различных локализаций, которые были выявлены в основной когорте. Риск стандартизирован по экспозиции лиц в возрасте 30 лет (усредненная по полу) и установлении диагноза опухоли в возрасте 70 лет. Горизонтальные полосы показывают 90% доверительный интервал. (Данные Preston D.L. et al., [120]).

Анализ онкологической заболеваемости у экспонированного после Чернобыльской аварии населения показал значительный рост рака щитовидной железы, в основном у людей, которые были детьми и подростками во время аварии и проживали в наиболее загрязненных районах Белоруссии, Российской Федерации и Украины. Эта подгруппа населения наблюдается по специальной программе по выявлению патологии щитовидной железы в рамках национальных чернобыльских реестров [43]. Согласно национальным исследованиям в трех пострадавших странах, к 2016 году в этой группе были диагностированы более 11 000 случаев заболевания раком щитовидной железы [14]. Скорее всего, часть этих случаев можно объяснить поступлением в организм в 1986 году высоких концентраций радиоактивного йода, хотя долгосрочный рост трудно определить в



количественном отношении, так как изучаемое население стареет и спонтанный риск рака щитовидной железы, выявляемого при таком направленном обследовании, также возрастает.

Ряд обследований свидетельствуют о возрастании в два раза заболеваемости лейкозами среди ликвидаторов, подвергшихся наибольшей экспозиции, и незначительном возрастании заболеваемости раком молочной железы в предклимактерическом периоде у женщин в наиболее загрязненных районах, что, по всей вероятности, вызвано радиацией [15]. Для подтверждения этих заключений сейчас проводятся долгосрочные эпидемиологические исследования в ряде стран, в том числе и в России [33].

При прогнозировании онкологического риска эксперты пришли к выводу [15], что среди трех групп людей, подвергшихся наибольшему воздействию радиации на протяжении их жизни, может произойти до 4000 дополнительных случаев смерти от рака или 3–4% превышения уровня заболеваемости раком, вызванной всеми обычными причинами. В отношении смертности от рака среди 5–миллионного населения в зараженных районах возможно около 0,6% дополнительных случаев смерти от ожидаемого их числа в этой популяции в результате других причин. Однако эти прогнозы весьма неопределенны, поскольку их трудно выявить. Следует отметить, что в отличие от атомного поражения жителей в Хиросиме и Нагасаки, воздействие радиации после Чернобыля было бóльшим по масштабу (по площади поражения и количеству пострадавших), хроническим по времени воздействия (в низких дозах в течение длительного времени), а медицинский мониторинг пострадавших проводился не столь тщательно и стандартизовано по сравнению с Японией, так как экспонированное население проживало в регионах из нескольких стран с разным уровнем медицинского обслуживания. К тому же продолжительность жизни у населения, пострадавшего после Чернобыля, существенно ниже, чем в Японии.

В 1957 году в Челябинской области на ядерном комбинате «Маяк» произошла радиационная катастрофа, по последствиям сходная с Чернобылем. В результате взрыва ёмкости хранилища радиоактивных веществ (плутония)

произошел выброс и загрязнение радионуклидами территории комбината (90% радиации), а также ближайших районов. В одной из публикаций сообщалось о смертности от рака в когорте около 21500 человек, работавших на этом предприятии [134]. Избыточный относительный риск рака легких, печени и скелета в группе (668 смертей), скорректированный на воздействие плутония, составил 0,30 на Гр ( $p < 0,001$ ), а для всех других солидных раков (1062 случая смерти) – 0,08 на Гр ( $P < 0,001$ ). Риск лейкозов зависел от времени после облучения. В случае смерти в первые 3–5 лет избыточный относительный риск для лейкозов был очень высок – 7,00 ( $p < 0,001$ ), но этот риск был только 0,45 ( $p = 0,02$ ) для доз, полученных за 5–45 лет до смерти. По этой информации подтверждается достаточно высокий риск развития рака, связанный с длительным воздействием внешнего  $\gamma$ -излучения всего тела при высоких кумулятивных дозах (средняя доза составляла 0,8 Гр и самые высокие дозы превышала 10 Гр) у российских атомщиков.

Ядерные катастрофы, к сожалению, возможны из-за стихийных бедствий, как это случилось в 2011 году на АЭС Фукусима-1 (Япония). В результате землетрясения и цунами произошел взрыв в реакторах и выброс радиоактивного  $^{137}\text{Cs}$  с последующим загрязнением территорий и океанской воды вблизи Фукусимы. Приняты меры по ликвидации аварии, дезактивации загрязнений и эвакуации около 150 тыс. человек из зараженных территорий. Однако, по мнению ученых, в течение ближайших десятилетий невозможно предсказать, как радиация повлияет на экосистемы и здоровье населения [33]. Принимая во внимание данные по Чернобыльской аварии, прогноз радиологических последствий аварии на АЭС в Фукусиме недавно был рассмотрен на основе моделей Международной комиссии по радиологической защите [33, 84]. Максимальная этиологическая доля радиации для солидных раков может составить 5,6%. Оценки носят предварительный характер ввиду неполноты основных дозиметрических и демографических данных.

Еще одним источником облучения населения является радон. Согласно оценкам экспертов Международной комиссии по радиационной защите его вклад в суммарную дозу радиации составляет более 50% [32]. ВОЗ относит  $\alpha$ -излучение радона и его дочерних продуктов радиоактивного распада к заведомо канцерогенам

физическим агентам для человека. Радон считается вторым по значимости после курения фактором риска рака легкого. Такое заключение было сделано экспертами Международной комиссии по радиационной защите на основании анализа всех имеющихся результатов эпидемиологических исследований [32]. Концентрации радона, выделяемые из почвы в домах очень различны и имеются радоноопасные территории. Большую часть дозы облучения от радона человек получает от радионуклидов, попадающих в его организм вместе с вдыхаемым воздухом, особенно в непроветриваемых или плохо проветриваемых помещениях. По действующим в настоящее время Нормам радиационной безопасности (НРБ–99) допустимая концентрация радона в воздухе не должна превышать 100 Бк/м<sup>3</sup> (для зданий построенных после 1999 года) и 200 Бк/м<sup>3</sup> (для ранее построенных зданий). Доказана связь эффекта «бытового» радона и повышения частоты рака легких при анализе «случай–контроль» в 13 странах Европы [50]. Особый канцерогенный риск воздействия радона имеют шахтеры, работающие на урановых шахтах. Результаты эпидемиологических исследований, проведенные в различных регионах Северной Америки и Европы, показали существенное возрастание частоты рака легких у шахтеров [100, 144, 148]. В отношении влияния курения не всегда удавалось отчетливо подтвердить синергизм в реализации канцерогенного эффекта обоих факторов (курения и радона) на развитие рака легкого [122].

## **1.2. Канцерогенная опасность использования радиации в медицине**

Методы лучевой диагностики, использующие ионизирующую радиацию, являются в настоящее время одними из основных, применяемых в клинической практике при диагностике и лечении различных заболеваний. При этом доза радиации, которую обычно получает пациент в результате компьютерной томографии всего тела, составляет 10–20 мЗв, при маммографии – 0,4 мЗв, рентгеноскопии грудной клетки – 0,1 мЗв [102]

При радиотерапии используемой, прежде всего, для лечения опухолей, могут применяться более высокие дозы (суммарные) и длительные курсы. Имеются

многочисленные наблюдения [141] о том, что такого рода радиационные воздействия могут приводить к возникновению вторичных опухолевых заболеваний спустя несколько лет (лейкозы – через 5–10 лет, а солидные раки различной локализаций – через 10 и более лет) [65, 93, 127]. Риск развития рака связан с дозой и зоной облучения. Некоторые органы, такие как молочная и щитовидная железы, особенно предрасположены к развитию рака после радиации [128]. Наибольший риск имеют пациенты, которым проводили лучевую терапию в детском возрасте и по мере взросления вероятность развития вторичных опухолей снижается [110]. Прогностические оценки вероятности развития вторичных опухолей делать затруднительно из-за неоднородности многих параметров, хотя допускают среднюю частоту в 1–2% [68], но бывает и выше. Примером могут служить результаты эпидемиологического и клинического исследования судьбы 55 тысяч женщин в США, которые в детском или молодом возрасте получали умеренное или высокодозное облучение грудной клетки ( $\geq 20$  Гр). У этих больных определялся значительный подъем заболеваемости раком молочной железы: стандартизованная частота была 23,3–55,5, а кумулятивная частота к 40–45 годам составляла 13–20% [71]. Вторичные опухоли развивались не ранее 8–10 лет после радиотерапии и динамика их развития не соответствовала возрастной для спорадического рака молочной железы.

Некоторые лучевые диагностические методы представляют канцерогенную опасность [99]. В настоящее время рентгенография при беременности строго запрещена, поскольку она приводила к возникновению лейкозов и опухолей у детей [44, 53]. Современная рентгенография пользуется цифровыми носителями изображения, что позволяет значительно уменьшить дозу облучения (на 50–90%) по сравнению с традиционной пленочной технологией. В настоящее время наибольшую опасность представляет компьютерная томография (КТ), особенно при несоблюдении определенных режимов и частоты их проведения у пациентов. Одноразовая лучевая нагрузка на пациента в зависимости от зоны может быть 10–12 мЗв, а при систематическом проведении КТ дозы облучения значительно возрастают. Ряд эпидемиологических исследований показывает, что КТ,

проводимая многократно, повышает риск развития опухолей [132, 46]. КТ является стандартным и широко используемым методом диагностики. В США только за 2007 год было проведено около 70 млн. КТ–процедур [66]. По расчетам экспертов, основанном на анализе эффективных дозовых нагрузок и вероятностном эффекте, можно ожидать в будущем примерно 29 тысяч случаев рака, обусловленных радиацией [66].

### **1.3. Средства, ингибирующие лучевой канцерогенез**

Среди наиболее перспективных способов профилактики опухолей, вызванных ионизирующим излучением, представляются агенты природного и, особенно, растительного происхождения. Многие препараты этой группы соответствуют требованиям, перечисленным выше [121].

В этой связи необходимо рассмотреть вопрос о том, какие из современных противолучевых средств целесообразно использовать. Согласно современной классификации, предложенной М.В.Васиным [11], ингибиторы канцерогенеза относятся к радиомодуляторам – препаратам, повышающим резистентность организма к действию вредных факторов, включая ионизирующее излучение. Эти средства должны снижать вероятность отдаленных эффектов радиации, в отличие от радиопротекторов и радиомитигаторов, которые препятствуют или ослабляют ранние радиационные поражения. Радиопротекторы применяются незадолго до облучения, чтобы препятствовать реализации «кислородного эффекта» в процессе поглощения энергии ионизирующего излучения, прежде всего, при радиоллизе ДНК. Радиомитигаторы – противолучевые препараты, которые реализуют свой эффект на системном уровне путем ускорения пострадиационного восстановления радиочувствительных тканей через активацию ряда провоспалительных сигнальных путей и усиление секреции гемопоэтических ростовых факторов. Их применяют, в том числе, в ранние сроки после облучения до развития клинических проявлений картины острого лучевого поражения в качестве средств неотложной и ранней терапии радиационных поражений. Радиопротекторы и радиомитигаторы

являются классическими противолучевыми лекарственными средствами, действие которых направлено на специфические поражения, вызываемые радиацией на молекулярном, клеточном, тканевом и организменном уровне. Они изучаются десятки лет и некоторые из них (амифостин) уже начали использоваться в клинике. Радиомодуляторы – это средства препятствующие реализации радиационного канцерогенеза. Согласно программе, принятой в Национальном институте рака США, радиомодуляторы относят к радиомитигаторам отсроченных эффектов острого радиационного поражения [155], куда входят средства, снижающие риск рака. Многие из них могут оказывать ингибирующий эффект на развитие опухолей, вызванных не только радиацией, но и химическими канцерогенами, а также другими канцерогенными факторами, т.е. соответствуют по нашей терминологии средствам химиопрофилактики рака. Кроме того, они нередко являются геропротекторами, т.е. способны препятствовать процессам старения организма. В.Н.Анисимов [2] представил детальный анализ изменений на всех уровнях (системном, тканевом и клеточном, молекулярном), которые оказались однотипными как при старении организма, так и всех видах канцерогенеза, вызываемого химическими агентами, ионизирующей радиацией или гормональными нарушениями. Радиомодуляторы, как и многие средства химиопрофилактики рака, чаще всего проявляют ингибирующий эффект на канцерогенез при их применении после облучения (в период промоции канцерогенеза), причем в течение длительного времени. Как известно, антиканцерогенные вещества по основному механизму относятся к следующим классам: индукторы сигнальной трансдукции, гормональные модуляторы, противовоспалительные агенты, антимуутагены и антиоксиданты [87]. Адаптогены – ряд средств природного происхождения или синтетических, которые способны повышать неспецифическую сопротивляемость организма, также нередко проявляют антиканцерогенные свойства [6, 34]

До сих пор не так много средств, подавляющих канцерогенез, было изучено на модели радиационного канцерогенеза (таблица 1.1). В большинстве таких экспериментов применялась модель опухолей молочной железы, вызываемых у

крыс в результате однократного тотального облучения (чаще  $\gamma$ -лучи) в сублетальных дозах (1,5 – 4 Гр). Реже использовались мыши (в частности, линии Swiss), у которых после однократного облучения возникали лимфомы тимуса. Ниже приводятся основные группы средств, подавляющих канцерогенез, которые были тестированы на моделях радиационных опухолей и проявили способность их ингибирования по основным параметрам канцерогенеза: частота и/или множественность опухолей (всех или определенных локализаций). Следует заметить, что полного подавления индуцированных радиацией опухолей достичь не удавалось.

Известны некоторые попытки изучить возможность ингибирования опухолей, используя препараты, относящиеся к радиопротекторам. В одном из экспериментов амифостин, классический радиопротектор, вводили мышам однократно до локального облучения лапки в очень высоких дозах (34–57 Гр).

Таблица 1.1. – Влияние различных средств на канцерогенез, индуцированный ионизирующей радиацией у лабораторный животных

<b>Вид, пол</b>	<b>Препарат; до/после облучения</b>	<b>Облучение</b>	<b>Основная локализация опухолей</b>	<b>Эффект</b>	<b>Источник</b>
Мыши	Амифостин до	$\gamma$ -лучи, 34–57 Гр; однократно	Область лапы на месте облучения	Ингибирование	[106]
Крысы, самки	АТФ–АЕТ–мексамин после	$\gamma$ -лучи, 4 Гр; однократно	Молочная железа	нет	[41]
Крысы, самки	Фенформин после	X–лучи, 4 Гр; однократно	Молочная железа, гипофиз	Ингибирование	[3]
Крысы, самки	Безафибрат после	$\gamma$ -лучи, 2,6 Гр; однократно; + диэтил–стильбэстрол, длительно	Молочная железа	Ингибирование	[82]

Крысы, самки	Симвастин одновременно	$\gamma$ -лучи, 2,6 Гр; однократно; + диэтил-стильбэстрол, длительно	Молочная железа	Ингибирование	[81]
Крысы, самки	Тималин; после	X-лучи, 4 Гр; однократно	Молочная железа	Ингибирование	[4]
Крысы, самки	Эпиталамин после	X-лучи, 4 Гр; однократно	Молочная железа	Ингибирование	[4]
Крысы, самки	Тимоген одновременно	$^{90}\text{Sr}$ и $^{137}\text{Cs}$ ; 12 мес.	Молочная железа	Ингибирование	[5]
Крысы, самки	Дегидроэпиандростерон после	$\gamma$ -лучи, 2,6 Гр; однократно; + диэтил-стильбэстрол, длительно	Молочная железа	Ингибирование	[78]
Крысы, самки	Куркумин после	$\gamma$ -лучи, 2,6 Гр; однократно; + диэтил-стильбэстрол, длительно	Молочная железа	Ингибирование	[80]
Крысы, самки	Куркумин до/после	$\gamma$ -лучи, 1,5 Гр; однократно; + диэтил-стильбэстрол, длительно	Молочная железа, гипофиз	Ингибирование	[79]
Мыши, самки	Куркумин после	$\gamma$ -лучи, 3 Гр; однократно	Лимфомы тимуса	Ингибирование	[48]
Мыши, самки	Аскорбиновая кислота после	$\gamma$ -лучи, 3 Гр; однократно	Лимфомы тимуса	Ингибирование	[48]
Мыши, самки	Эвгенол после	$\gamma$ -лучи, 3 Гр; однократно	Лимфомы тимуса	Ингибирование	[48]
Крысы, самки	Женьшень одновременно /после	$\gamma$ -лучи, 9,37 Гр (суммарно); 30 дней	Молочная железа, другие органы	Ингибирование	[25]

Среди выживших животным к двум годам после облучения частота опухолей в зоне облучения была меньше в 3 раза, чем в контроле [106]. Эти результаты показывают, что снижение цитотоксического лучевого повреждения с помощью амифостина, в принципе, может ослаблять и отдаленные эффекты. У крыс, получавших с



питьевой водой смесь нескольких известных веществ из класса радиопротекторов – АТФ–АЭТ–мексамина (АТФ – аденозин–5'-трифосфат; АЭТ – аминоэтилизотиуроний, аналог 2–меркаптоэтиламина; мексамин – хлорид 5–метокситриптамина) длительно после однократного облучения (модель опухолей молочной железы), получены отрицательные результаты [41].

Во всех других экспериментах использовались средства, относящиеся к радиомодуляторам, которые вводили в большинстве случаев после однократного облучения (таблица 1.1). Антидиабетический (гипогликемический) препарат фенформин и гиполипидемические средства безафибрат и симвастин, эффективно тормозили развитие опухолей молочной железы, вызываемых у крыс. Скорее всего, эти препараты нормализуют гормонально–метаболические нарушения, возникающие в организме в период промоции канцерогенеза [2]. На этой же модели опухолей молочной железы, вызываемых радиацией у крыс, антиканцерогенную активность проявили полипептидные препараты из тимуса (тималин) и эпифиза (эпиталамин) животных, а также синтетический пептид тимоген. Ингибирующий эффект этих препаратов на канцерогенез вероятно связан с их способностью снижать скорость накопления патологических изменений в клетках (повреждения ДНК, мутации, злокачественная трансформация и т.п.) и повышать активность репарации [2]. В экспериментах Inano и сотр. [78,79,80] использовалась двухстадийная модель индукции опухолей молочной железы с однократным  $\gamma$ -облучением крыс (инициация канцерогенеза) и последующим введением в течение года диэтилстильбэстрола (промоция канцерогенеза). При такой схеме дополнительное введение дегидроэпиандростерона после облучения оказало антипромоторное влияние и привело к ингибированию канцерогенеза [78]. На этой же двухстадийной модели показана выраженная способность тормозить развитие радиационных опухолей с помощью растительного препарата куркумина. Антиканцерогенные свойства куркумина, а также аскорбиновой кислоты и эвгенгола (гвоздичное масло) были продемонстрированы и на модели индуцированных радиацией лимфом тимуса у мышей [48]. Все эти препараты

оказывают выраженные антиоксидантные свойства, что может определять их способность тормозить вызванные радиацией опухоли.

Несмотря на то, что в течение последних 50 лет проводились многочисленные исследования по химиопрофилактике рака с использованием моделей животных с опухолями при различных локализациях, вызванных главным образом химическими канцерогенами и довольно редко ионизирующим излучением [87], систематическая клинико–эпидемиологическая информация о химиопрофилактике опухолей в популяциях, подвергшихся радиационному облучению отсутствует. Вместе с тем, имеются некоторые экспериментальные данные о возможности ингибирования радиационного канцерогенеза. Анисимов и др. [3] продемонстрировали, что долгосрочное введение противодиабетического препарата фенформин взрослым самкам крыс сразу же после однократной дозы рентгеновского излучения всего тела 4 Гр существенно уменьшает заболеваемость опухолями, особенно в молочной железе и гипофизе. У облученных крыс частота всех опухолей достигала 78% (злокачественных – 42%) и новообразования чаще всего встречались в молочной железе, реже – в эндокринных железах (преимущественно гипофизарных) и репродуктивных органах.

В аналогичных экспериментах у облученных крыс, получавших полипептидные факторы, выделенные из тимуса (тималин) или эпифиза (эпиталамин), наблюдалось значительное снижение частоты опухолей [4]. Все три препарата значительно снизили частоту новообразований – в 1,3–2,7 раза по сравнению с облученным контролем, не получавшим препаратов [3,4]. По мнению авторов, антиканцерогенное действие этих препаратов объяснялось их способностью нормализовать гормональные и метаболические сдвиги и связанные с ними нарушения иммунитета, которые могут быть вызваны воздействием ионизирующей радиации у самок крыс.

В других моделях дегидроэпиандростерон [78], гиполипидемический препараты безафибрат [82] и симвастатин [81] и полифенольный препарат куркумин [80], выделенные из корневища *Curcuma longa*, подавляли развитие опухолей молочной железы, вызванных ионизирующим излучением, при введении

во время пренатального периода с последующей промоцией диэтилстильбэстролом у самок крыс.

В другом исследовании низкокалорийная диета ингибировала развитие различных опухолей у самок (главным образом опухолей молочной железы) и самцов крыс, подвергшихся облучению всего тела [67]. Степень подавления развития новообразований с помощью упомянутых выше модифицирующих факторов достигала 1,5–3 раз, хотя практическое применение этих препаратов в качестве противоопухолевых химиопрофилактических средств является сомнительным из-за неблагоприятных побочных эффектов, которые могут возникать при их длительном использовании.

#### **1.4. Применение средств, ингибирующих лучевой канцерогенез, при аварийных радиационных воздействиях**

Следует упомянуть некоторые попытки использовать средства для снижения риска развития радиационных опухолей среди подвергшихся радиационному воздействию человеческих популяций. Интересные данные получены с Танаканом (экстракт Гинкго билоба), обладающим антикластогенными свойствами. Как известно, кластогенные факторы (КФ; различные хромосомные аберрации) являются биомаркерами окислительного стресса и их уровень может быть повышен на поздних стадиях после облучения [59]. КФ были определены в сыворотки крови у небольшой группы участвующих в работах по ликвидации Чернобыльской аварии в 1986 – 1988 годах [57]. В проспективных наблюдениях 30 рабочих получали Танакан (40 мг x 3 раза/день) в течение двух месяцев. В результате у них было зарегистрировано статистически значимое снижение КФ в образцах крови в течение около 7 мес., но у одной трети наблюдавшихся после 1 года их уровень вновь оказался повышенным. Антикластогенные свойства авторы связывают с наличием флавоноидов и терпеновых соединений в экстрактах Гинкго билоба. В другом исследовании 20 ликвидаторов из числа экспонированных при Чернобыльской аварии получали в течение 3 мес. комбинированный препарат

(«антиоксидантный биофактор»), состоящий из растительных фенолов, витаминов и олигоэлементов. В течение последующих 12 мес. уровень КФ в сыворотке крови у наблюдавшихся был снижен по сравнению с таковым до этого курса [56]. Полагают, что определение КФ как индикатора окислительного стресса может быть использовано как один из предсказательных тестов канцерогенного риска в результате облучения, а также для оценки ингибирующей активности средств химиопрофилактики рака [113].

В настоящее время представляется актуальной разработка молекулярных биомаркеров, с помощью которых можно судить о внутренней дозе облучения организма, эффективной дозе, цепи предклинических биологических эффектов, а также индивидуальной чувствительности к радиации [27, 69, 119]. Их использование в эпидемиологических и клинических исследованиях необходимы при оценке риска возникновения опухолей и контроля эффективности при проведении испытаний средств химиопрофилактики рака [119, 155].

### **1.5. Биохимические маркеры предсказания развития опухолей вызванных радиацией**

Пионером в сфере изучения предиктивных биомаркеров уже в течение более 20 лет является радиационная онкология. С помощью предсказателей ответа на лучевую терапию (ЛТ) выявлены взаимосвязи между такими параметрами новообразования, как например, величина показателя срока гибели определённых клеточных клонов или временем возможного удвоения опухоли и её размерами, а также между степенью радиочувствительности ДНК клеток крови и длительностью безрецидивного периода онкологических больных [18, 151, 153].

Необходимость совершенствования предиктивных биомаркеров для более широкого использования их в эксперименте и клинической практике стимулировала разработку высокотехнологичных показателей, в частности, сигнатура экспрессии ДНК – так называемый ДНК–эррей. К настоящему времени уже установлены определенные изменения уровней экспрессии ДНК, которые

позволяют предсказать увеличение или сокращение продолжительности жизни при лечении пациентов с опухолями ряда локализаций, например, мультиформной глиобластомы, раком молочной железы, колоректальным раком [54, 98, 83]. Определение увеличения или снижения величины показателя количества активно экспрессирующихся генов может быть применено не только для селекции больных перед началом таргетной терапии, в процессе лечения, но и для диагностики инициации канцерогенеза и персонализации профилактики развития новообразований. Выявление уникальных ДНК–эррей в изученных опухолях привело к сдвигу парадигмы маркеров персонализированной медицины от однопараметровых показателей к индексу, включающему многопараметровый анализ изменений ДНК (или РНК), что может повысить специфичность и чувствительность диагностики. Эта эволюция взглядов подобна изменениям, которые произошли в физике около 100 лет назад при открытии представлений квантовой теории в сопоставлении с законами классической механики. Установление взаимосвязи изменения уровня экспрессии ДНК с ответом опухоли на ЛТ не одного белка–фермента (например, специфичной фосфатазы или протеазы), а группы генов–предикторов позволяет обеспечить более надёжное измерение радиочувствительности исходя из следующих соображений:

1) оценка активности группы из множества генов делает определение показателя менее восприимчивым к возможным частным случайным ошибкам, вызванным кажущимися (ложными или иллюзорными) факторами, не связанными, например, с изменениями радиорезистентности, в отличие от их влияния на экспрессию одиночного гена–маркера;

2) радиорезистентность может быть следствием или результатом сочетанного действия нескольких различных независимых факторов, каждый из которых не выявляется при целенаправленном тестировании показателя только радиочувствительности.

Более того, положительный пример использования некоторых генных–предикторов РМЖ (таких как “oncotype DX” и “MammaPrint”) свидетельствует в пользу того, насколько успешно применяются такие мультигенные оценки для

принятия решения в клинике. При этом снятие ограничений с определения жестко установленного количества активно экспрессирующихся генов представляется более гибким и перспективным подходом [18], чем оценка степени экспрессии исходя из анализа фиксированного числа генов, выявляемых с помощью ДНК-микрочипов [58]. Задачей исследовательских проектов является всесторонний учёт присутствующих в различных формах опухолей и геномных, и эпигеномных изменений, которые потенциально могут вносить вклад в развитие заболевания. В настоящее время идет проработка общегеномного предикторного показателя с использованием методов оценки экспрессии ДНК, однако гетерогенность клеточной популяции опухолей пока не позволила сделать однозначных заключений о возможности практического использования такого критерия [139].

Успехи биотехнологии позволили снизить стоимость анализа структуры генома в целом и сделали возможным проведение всего генетического анализа индивидуально с точностью, достаточной для практического использования. Для того чтобы определить высокую степень вероятности развития опухолевого заболевания на основании, например, индивидуальной генетической информации, выявленные персональные изменения в геноме врачам необходимо сопоставить с соответствующими референсными показателями в группе одновозрастных здоровых людей после тестирующего воздействия [130, 156]. Достижения биотехнологии открыли возможности быстрой и достаточно обширной оценки молекулярного профиля, чтобы выявить генетические aberrации. Если такая технология сочетается с разработкой новых лекарственных препаратов, подавляющих функции драйверных генов, то это раскрывает новые пути использования персонализированной медицины для пациентов с генетическими aberrациями в опухолевых клетках [145], на которые, возможно, и химиопрофилактические средства будут оказывать целенаправленное воздействие. Вместе с тем эти авторы также полагают, что гетерогенность клеток опухолевой ткани осложняет успешность использования такого показателя как молекулярный профиль новообразования.

Несомненно, разработка новых способов анализа откроет в дальнейшем более широкие возможности для улучшения раннего выявления опухолей, эффективности противоопухолевой терапии, включая выбор конкретной тактики лечения, а также для предсказания персонального ответа на профилактические мероприятия, что раздвинет границы их полезности и для больных, и для экономики здравоохранения.

При инициации развития опухолей и их метастазировании более раннее и качественно иное заключение о реакциях организма по сравнению с цитологическим, возможно путём биотестирования с использованием особых (или ряда) биохимических показателей, полученных при анализе соматических клеток [163] или крови, использованной в качестве жидкостной биопсии [101].

После радиационного воздействия одним из таких показателей для предсказания распространения через кровь опухолевых клеток является внеклеточная циркулирующая ДНК опухолей (цодНК), которая представляет собой фрагментированную ДНК генома, высвобождающуюся в периферическую кровь из циркулирующих опухолевых клеток, метастазирующих клеток или гибнущих клеток опухоли. Так как в настоящее время нет методов специфического отделения цодНК от других молекул ДНК, циркулирующих в крови [124], она может быть определена только путём обнаружения в ней опухолеспецифичных мутаций [91,124] в ряде онкогенов, таких как KRAS [154], PIK3CA [72, 131], EGFR [129]. Однако в настоящее время этот тест может выявить лишь мутированные последовательности, если они составляют более 30% всего генетического содержания. Поэтому отрицательные результаты секвенирования цодНК, полученные таким способом, не могут быть интерпретированы как отсутствие мутаций вообще в интересующем гене. При обнаружении низкого уровня мутантной цодНК с помощью стандартных способов секвенирования необходимо применить более чувствительные методы, например, технологию, которая позволяет выявить порядка одной модификации на 5000 молекул ДНК [109], определение мутаций с использованием полимеразной цепной реакцией цодНК [64].

Наряду с этим, к настоящему времени имеются данные о выявлении у животных после облучения в крови ДНК с присущими стволовым опухолевым клеткам свойствами, отражающими изменения её суперспиральной структуры и соответствующими эпителиально–мезенхимальной трансформации клеток [21, 31]. Показано также, что редукция спектра экспрессии ДНК нуклеотидов клеток крови связана со снижением степени их радиочувствительности [20]. Этот феномен сходен с тем, который наблюдается в стволовых клетках РМЖ, имеющих более высокую резистентность к химиотерапевтическим препаратам, чем более дифференцированные (нетуморогенные) клетки молочной железы [47]. Полученные данные могут свидетельствовать о том, что более надёжным подходом для предсказания развития опухолевого процесса, индуцированного радиацией, является биохимический показатель, основанный на определении суммарных изменений структуры ДНК – как клеток, так и внеклеточной.

Экспериментальная апробация такого маркера, основанного на определении изменений суперспиральной структуры тотальной ДНК крови (с использованием бромистого этидия) после облучения *in vivo*, позволила выявить крыс, у которых впоследствии развивались новообразования, от животных, не имевших опухолей [21]. Таким способом можно было после тестирующего лучевого воздействия оценить степень устойчивости ДНК к деградации, что являлось отражением в ней возможных мутаций или эпигенетических изменений, способных предопределить уровень чувствительности/резистентности к радиации конкретного организма. Было показано также, что изменения этого биохимического показателя изменений степени суперспирализации ДНК, коррелировали с вариациями величины индекса ДНК нуклеотидов крови, измеренного с помощью флуоресцентного красителя – 4',6–диамидино–2–фенилиндола [20]. Поэтому для выявления признаков развития радиационного канцерогенеза, необходимо определить эффект лучевого воздействия в пробах конкретного индивидуума на изменения вышеназванных суммарных показателей содержания и структуры ДНК, и уже затем осуществить тестирование исследуемого препарата, предполагаемого в качестве химиопрофилактического средства.



## **1.6. Требования к материалу для анализа и методам определения предиктивных маркеров возникновения опухолей**

В практическом аспекте важно, чтобы анализ статуса мутаций при возникновении опухоли осуществлялся на основании анализа материала, полученного у конкретного пациента неинвазивно. Такое получение материала для выявления стволовых опухолевых клеток позволяет без дополнительного раздражения (как стимулятора процесса канцерогенеза) планировать лечение опухоленосителей, а в случае предикции возникновения новообразований оно является единственным, которое способно оценить эффективность разрабатываемой профилактики в связи с неопределенностью (или отсутствием) точной локализации первичного очага. Кроме того, использование ткани в качестве материала для анализа биоптата выявляет как драйверные мутации, так и мутации–пассажиры, которые не управляют развитием злокачественных свойств новообразования, а обусловлены адаптацией его клеток к другим факторам (например, микроокружению или проводимой терапии). Одним из возможных способов выявления формирования более полноценного комплекса активных опухолевых клеток представляется их обнаружение (или их ДНК) в так называемой «жидкостной биопсии» – пробе крови, как к среде распространения и метастазирования. Проба крови (как жидкостная биопсия) может быть получена у больного практически всегда. Она является и неинвазивным, и менее рискованным путём получения драйверных клеток в качестве материала для анализа, чем биопсия собственно ткани опухоли. Анализ суммарной ДНК = цоДНК + неопухолевой ДНК крови может быть также альтернативой множественным тканевым биопсиям, осуществляемым в процессе прогрессии опухоли для определения изменений чувствительности / резистентности к химиолучевой терапии, и позволяет при необходимости проводить серийное тестирование крови в процессе курса лечения [124].

Относительно требований к биомаркеру для предикции вероятного возникновения опухоли следует отметить, что определение такого показателя

должно быть нетрудоемким, надёжным, иметь оптимальное соотношение эффективности к стоимости, при его достаточно высокой специфичности и чувствительности [101]. Однако, по мнению самих же авторов этих требований, ни один из известных им маркеров пока не был внедрен в повседневную исследовательскую практику.

Показателем, в значительной степени удовлетворяющим вышеперечисленным требованиям, может быть биохимический маркер оценки генотоксических эффектов в лейкоцитах крыс, измеренный с помощью экспресс-метода, который позволяет с помощью флуорохрома – 4',6-диамидино-2-фенилиндола определить величину изменений индекса ДНК (ИД) – количества выявляемой флуоресцентным зондом ДНК крови нуклеотидов в расчёте на лейкоцит [18].

При этом для определения величины ИД необходимо всего 0,05 мл крови, а время его измерения занимает всего 10–15 мин, тогда как большинство методов, используемых для биотестирования повреждающих воздействий в ДНК, требует гораздо больше времени и материала для определения соответствующих показателей. Так как определение ИД требует достаточно малых объемов анализируемого материала и короткого времени, то это позволяет рекомендовать его для практически экспрессной прижизненной оценки повреждающих эффектов физико-химических воздействий на ДНК у мелких лабораторных животных и в соматических клетках млекопитающих. Это дает возможность оперативно осуществлять мониторинговые измерения и в ходе экспериментов, и в клинике.

Вместе с тем, разработка чувствительных молекулярных методик изменений содержания и структуры ДНК крови после тестирующих воздействий является лишь первым этапом в ряду показаний к целенаправленной химиопрофилактике канцерогенеза. Она позволяет выявить клетки с изменениями, подобными таковым в стволовых опухолевых клетках при развитии опухолей у животных, облучённых *in vivo*.

## 1.7. Анतिकанцерогенная активность и механизмы действия исследуемых препаратов

В работе был изучен ряд препаратов, которые уже использовались в клинической практике [74, 85, 92, 103], но не были известны как ингибиторы радиационного канцерогенеза. Одним из них является известный антиканцерогенный агент – альфа–дифторметилорнитин (ДФМО) – синтетический препарат, который является мощным необратимым ингибитором орнитиндекарбоксилазы, ключевого фермента синтеза полиаминов, способствующих клеточной пролиферации [103, 73].

В экспериментах по химическому канцерогенезу ДФМО, синтетический аналог орнитина, продемонстрировал способность ингибировать развитие опухолей практически при любой локализации [35, 8, 61, 103, 150], в связи с чем этот препарат использован нами в качестве препарата сравнения. Этот препарат, применяемый обычно длительно в период промоции канцерогенеза, подавлял развитие опухолей молочной железы, легких, языка, пищевода, желудка, толстой кишки, печени, трахеи, простаты, нервной системы, почек и кожи, вызываемых химическими канцерогенами у лабораторных грызунов [8, 103]. В клинических исследованиях у пациентов из групп повышенного риска возникновения рака различных органов ДФМО приводил к благоприятным сдвигам, свидетельствующим о снижении риска: применяемый местно, в течение 6 месяцев, вызывал регрессию актинического кератоза кожи [55]; при пероральном приеме в течение 12 месяцев задерживал увеличение объема простаты у больных с доброкачественной гиперплазией данного органа [137]; при пероральном приеме в течение 36 месяцев в комбинации с нестероидным противовоспалительным препаратом сулиндак предупреждал появление новых аденоматозных полипов ободочной и прямой кишки у пациентов с удаленными колоректальными полипами в анамнезе [104]. В рандомизированном исследовании ДФМО при пероральном применении в течение 4–5 лет снижал риск развития новых случаев рака кожи у больных с раком кожи в анамнезе [39]. В клинических наблюдениях ДФМО,

применяемый в качестве химиопрофилактического агента (в течение 6 месяцев и в низких дозах 2–5 лет), показал положительные результаты при немеланомном раке кожи [55, 39], полипозе толстого кишечника [104] и гиперплазии предстательной железы [137]. Описано влияние ДФМО в качестве анти–промотирующего агента при развитии опухолей кожи и костей, вызванных повторным  $\beta$ –облучением спины мышей ICR 3 раза в неделю в дозе 3 Гр на экспозицию [114]. Применение ДФМО в концентрации 10 мг / мл в питьевой воде привело к значительной задержке во времени появления и количества опухолей кожи и костей, хотя в конце эксперимента кумулятивная частота опухолей, рассчитанная по методу Каплана–Мейера, достигла 100%. Результаты, полученные в этих экспериментах, можно считать относительно положительными.

Четыре других препарата, которые были выбраны для исследования, являются широко используемыми, особенно в традиционной медицине, фитопрепаратами: женьшень (*Panax ginseng* CA Mey) [85], элеутерококк (*Eleutherococcus senticosus*, Rupr. Et Maxim. Maxim) [74] левзея (*Rhaponticum carthamoides*, Willd. Пjin) [92] и лабазник (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim [86]

Для всех вышеназванных фитопрепаратов была установлена антиканцерогенная активность. Наиболее изучен в этом отношении женьшень как в экспериментальных, так и в эпидемиологических и клинических исследованиях; антиканцерогенная активность элеутерококк и левзея изучалась только в экспериментах. Однако в экспериментах способность тормозить развитие опухолей для всех фитоадаптогенов показана только на моделях химически индуцированного канцерогенеза у животных.

Антиканцерогенные свойства женьшеня выявлены в экспериментах на моделях индуцированных опухолей различных локализаций, вызываемых органотропными химическими канцерогенами [42, 62, 111, 90, 161].

В Корее было проведено три крупномасштабных эпидемиологических исследования по влиянию препаратов из корня женьшеня на риск злокачественных опухолей. В двух исследованиях по методу случай–контроль общий относительный риск рака при регулярном приеме женьшеня снижался до 0,20–0,57,

женьшень достоверно снижал риск рака губы, ротовой полости, глотки, пищевода, желудка, толстой кишки, печени, поджелудочной железы, легкого и яичников. В когортном исследовании при наблюдении в течение 5 лет за жителями провинции Кореи, у принимавших женьшень риск злокачественных опухолей снижался до 0.4 по сравнению с теми, кто не его не принимал; наиболее отчетливо женьшень снижал риск рака желудка и легкого. Сделан вывод о не органоспецифичном онкопрофилактическом действии женьшеня [158]. В двойном слепом рандомизированном плацебо–контролируемом исследовании 643 больным хроническим атрофическим гастритом в течение 3 лет давали экстракт корня женьшеня и наблюдали за пациентами еще 8 лет; по сравнению с плацебо при приеме женьшеня у мужчин относительный риск рака желудка, легких и других органов статистически значимо снижался до 0.35 [162]. В клинических исследованиях культуральный препарат корня женьшеня вызывал регрессию предраковых изменений пищевода и матки у больных хроническим атрофическим язвенным эзофагитом и железистой гиперплазией эндометрия [42]. В экспериментах на моделях канцерогенеза, индуцированного химическими канцерогенами у лабораторных грызунов, экстракты корня женьшеня тормозили развитие злокачественных и доброкачественных опухолей легких [158], желудка [90], печени [152], кожи [111], молочной железы, головного и спинного мозга, шейки матки и влагалища [42].

Элеутерококк колючий – лекарственное растение семейства Araliaceae, экстракты из корня которого проявляли антиканцерогенную активность на различных моделях химически индуцированных и спонтанных опухолей: легких, кожи, толстой кишки, шейки матки, головного и спинного мозга, гипофиза, щитовидной железы, лейкозов, подкожных сарком [34].

По сравнению с ДФМО способность препаратов из корня элеутерококка предупреждать возникновение опухолей менее изучена, хотя имеющиеся в литературе сведения свидетельствуют о том, что экстракты элеутерококка, в том числе официальная настойка корня элеутерококка, обладают неорганоспецифическим антиканцерогенным действием. Основными

действующими веществами корня элеутерококка, как и других фитоадаптогенов, например, женьшеня, являются тритерпеновые гликозиды – элеутерозиды А, В, С, D, Е; даукостерин [6]. Н.В. Лазарев связывал антиканцерогенные эффекты экстракта элеутерококка со способностью вызывать состояние неспецифически повышенной сопротивляемости организма; у экстракта элеутерококка выявлено иммуномодулирующее действие – стимуляция реакций макрофагов, повышение активности естественных клеток–киллеров, стимуляция выработки интерферона; антиоксидантные свойства, способность нормализовать гормональные и метаболические нарушения, усиливать процессы репарации ДНК, что также вносит свой вклад в антиканцерогенные механизмы действия [6, 34].

В экспериментах экстракт корня элеутерококка тормозил развитие спонтанных лейкозов у мышей; аденом легких, карцином кожи у мышей; доброкачественных и злокачественных новообразований щитовидной железы, аденом гипофиза, подкожных сарком у крыс, подвергавшихся воздействию химических канцерогенов [34]. Экстракт корня элеутерококка также тормозил развитие глиом головного и спинного мозга, аденом толстой кишки, карцином шейки матки и влагалища, индуцированных химическими канцерогенами у лабораторных грызунов [10].

Экстракт корня левзеи в одном исследовании тормозил развитие глиом головного мозга, индуцированных химическим канцерогеном у крыс [10].

Препараты лабазника (цветы, корни, трава) в виде отвара или настойки широко используются в народной медицине в качестве противовоспалительного, противоязвенного, ранозаживляющего, противомикробного и успокаивающего средства; для лечения заболеваний желудочно–кишечного тракта, почек и мочевых путей, верхних дыхательных путей, ревматизма, эпилепсии и других нервных заболеваний [40, 86]. В современной медицине препараты лабазника рекомендуются для использования в качестве средства для заживления ран и противовоспалительных средств [52].

Лабазник содержит ряд активных соединений, таких как флавоноиды, фенольные кислоты (галлиевые, кофейные, салициловые и другие) и танины [26,

87], многие из которые могут ингибировать канцерогенез у животных [136, 142]. Кроме того, экстракты лабазника показали выраженные антиоксидантные свойства [112, 52], который считается одним из основных механизмов антиканцерогенного действия [140]. До сих пор, однако, препараты лабазника не изучались как противоопухолевые химиопрофилактические средства.

Таким образом, выявление химиопрофилактических средств, и предикция развития новообразований, возникающих вследствие воздействия ионизирующей радиации в результате аварий на атомных энергетических установках, лучевой терапии и при других обстоятельствах, представляется актуальной задачей, решение которой пока сдерживалось накоплением новых экспериментальных данных и подходов. Еще одной задачей работы явилось выявление токсикогеномных показателей лейкоцитов крови крыс после действия ионизирующего излучения и их модификации химиопрофилактическими препаратами в процессе радиационного канцерогенеза, так как это может позволить ускорить процесс скринга средств химиопрофилактики рака.

## ГЛАВА II

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### 2.1. Животные, их содержание и использование

В экспериментах были использованы аутбредные крысы Вистар собственной разводки НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова. Данные животные происходят из линии Вистар разводки питомника ФГУП "Питомник лабораторных животных "Рапполово" (Россия, Ленинградская область), впоследствии поддерживаемые в разводке НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова (Санкт-Петербург). Сток аутбредных крыс Вистар, полученных в институте Wistar в США, был завезен в питомник "Рапполово" в 1956 году из компании Charles River United Kingdom (CRUK). На протяжении более 20 лет они использовались в ряде лабораторий НИИ онкологии, хорошо изучены их различные параметры и, прежде всего, частота и спектр спонтанных опухолей, продолжительность жизни, чувствительность к действию различных канцерогенных агентов и других модифицирующих факторов [37, 12, 13, 147].

Всего в диссертационном исследовании было использовано 705 половозрелых крыс-самок в возрасте 3–4 месяцев, массой тела 140–160 гр. Животные содержались в соответствии с ГОСТ Р 53434–2009 [16], в виварии барьерного типа в условиях стандартного светового режима (12/12), при температуре воздуха в комнате 20–23°C и относительной влажности воздуха – 54–58%. Крысы находились в полипропиленовых клетках с металлической решетчатой крышкой, не более 6 животных в клетке. Смена подстилки (древесные опилки) и питьевой (водопроводной) воды производилась 3 раза в неделю. Обычная уборка помещения проводилась ежедневно, полная уборка помещения с мытьем полов и стеллажей проводилась 2 раза в неделю. В помещении ежедневно включали ультрафиолетовую кварцевую лампу. При этом животные в клетках были экранированы от ультрафиолетового облучения.



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

Крысы ежедневно получали стандартный полнорационный гранулированный комбикорм (рецепт ПК–120, ГОСТ Р 50.258–92), предназначенный для содержания лабораторных грызунов, производства компании "Лабораторкорм" (Москва). Состав корма: злаковые (пшеница, ячмень) и продукты их переработки (отруби пшеничные), мясо и субпродукты животного происхождения (мука мясокостная), шрот подсолнечный, витамины и минералы (премикс). Питательная ценность комбикорма и содержание в нем основных нутриентов приведены в таблице 2.1 Корм и питьевую водопроводную воду крысы получали без ограничений.

Таблица 2.1 – Питательная ценность комбикорма для крыс (рецепт ПК–120)

<b>Наименование</b>	<b>Единица измерения</b>	<b>Содержание</b>
Влажность, не более	%	13,50
Сырой протеин, не менее	%	19,0
Сырой жир, не более	%	5,0
Сырая клетчатка, не более	%	4,0
Сырая зола, не более	%	7,0
Кальций	%	0,9–1,2
Фосфор	%	0,6–0,9
Натрий, не менее	%	0,2–0,25
Поваренная соль, не более	%	0,20
<b>Дополнительно введено витаминов, витаминоподобных веществ и микроэлементов в 1 кг комбикорма</b>		
Витамин А	тыс. МЕ	27,0
Витамин D <sub>3</sub>	тыс. МЕ	1,375
Витамин Е	мг	125,0
Витамин В <sub>1</sub>	мг	30,0
Витамин В <sub>2</sub>	мг	9,5
Витамин В <sub>6</sub>	мг	15,0
Витамин В <sub>12</sub>	мг	50,0
Никотиновая кислота	мг	37,5
Витамин В <sub>5</sub>	мг	22,0
Витамин В <sub>9</sub>	мг	2,5
Холина хлорид	мг	1590,0
Витамин С	мг	70,25
Витамин К <sub>3</sub>	мг	62,5
Бетаин	мг	365,0
Fe	мг	128,0
Mn	мг	18,75
Zn	мг	128,0
Cu	мг	12,5
I	мг	2,3
Se	мкг	187,5
K	г	2,6

## 2.2 Схема эксперимента

Схема проведения экспериментов представлена на рисунке 2.1.

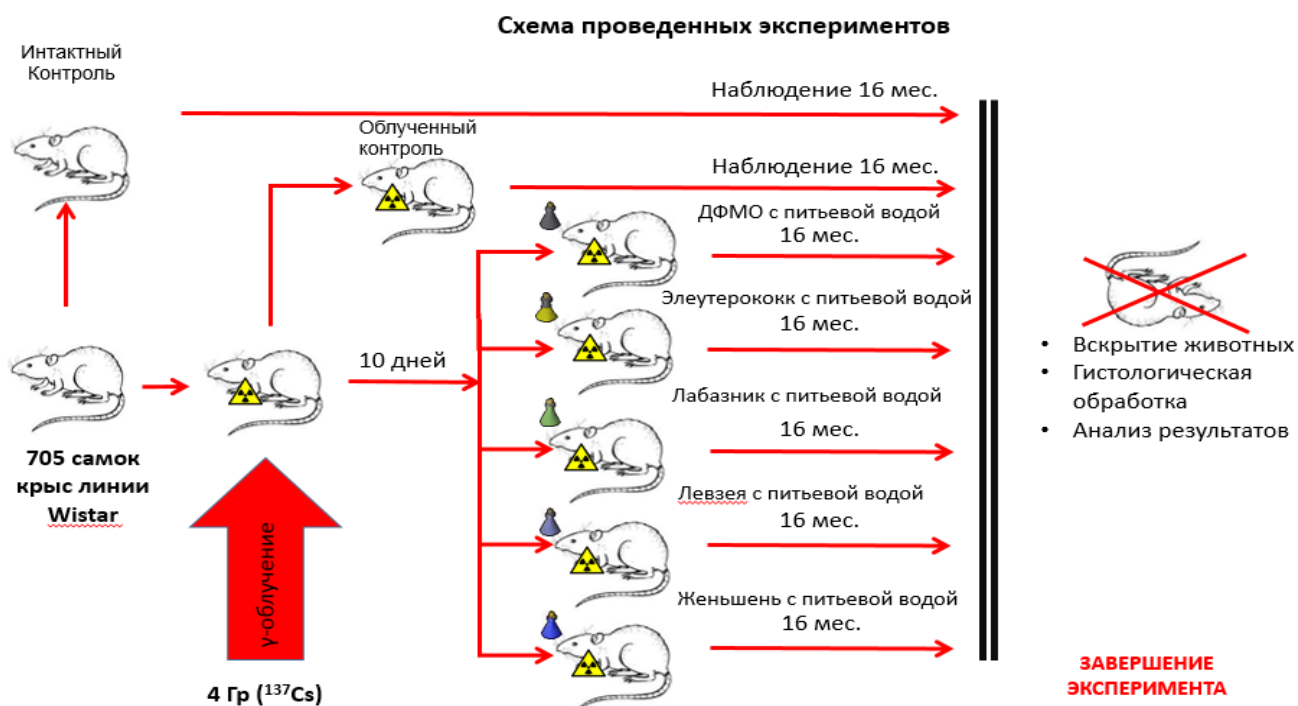


Рисунок 2.1. Схема экспериментов определения эффективности исследуемых средств на модели радиационно–индуцированного канцерогенеза.

## 2.3. Индукция радиационного канцерогенеза

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

## 2.4. Используемые препараты

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

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

2. Элеутерококк колючий (*Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim.). Препарат представляет собой официальную спиртовую настойку корня элеутерококка производства экспериментального цеха Горно–таежной станции Дальневосточного отделения РАН, Россия. Перед употреблением настойку препарата dealкоголизировали в вакуумно–роторном испарителе в течение 12 ч, а затем к остатку добавляли воду до первоначального объема взятой настойки.

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

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

4. Биоженьшень – биотехнологический лекарственный культуральный препарат женьшеня (*Panax ginseng* С. А. Mey) – официальная спиртовая настойка из биомассы культуры ткани корня *P. ginseng* (1:10 на 40%–ном этиловом спирте).

Использовался биоженьшень производства Киришского биохимического завода (г. Кириши Ленинградской области). Перед употреблением настойку препарата деалкоголизировали в вакуумно–роторном испарителе в течение 12 ч, а затем к остатку добавляли воду до первоначального объема взятой настойки.

## **2.5. Рандомизация животных, формирование экспериментальных групп, протоколы введения препаратов**

### **Первая серия экспериментов**

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

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

### **Вторая серия экспериментов**

Рандомизация животных производилась методом случайных чисел перед облучением. Крысы подвергались однократному тотальному  $\gamma$ -облучению в дозе 4

Гр, как и в первой серии, и из них были сформированы группа 7 (облученный контроль 2) – 50 крыс, и группа 8 (облучение + женьшень) – 50 крыс. В группе 7 все 50 крыс другим дополнительным воздействиям не подвергались. В 8-й группе все крысы с 10-го дня после облучения и до конца эксперимента давали с питьевой водой настойку биомассы культуры ткани корня женьшеня с питьевой водой в концентрации 20 мл/л для нормализации содержания активных веществ между исследуемыми фитоадаптогенами, что обусловлено сниженной концентрацией активных веществ в препарате корня женьшеня полученного культуральным способом по сравнению с препаратами из натурального сырья (в среднем 50%).

## 2.6. Методика оценки нарушений структуры ДНК клеток крови

Гематологические и токсикогеномные показатели определяли у животных индивидуально прижизненно путем взятия 0,05 мл крови из хвоста крыс через 30 суток после  $\gamma$ -облучения. Токсикогеномные эффекты в лейкоцитах крыс оценивали с помощью экспресс-метода, который позволял с помощью флуорохрома – 4',6-диамидино-2-фенилиндола определить величину индекса ДНК (ИД) – содержания ДНК нуклеоидов в расчёте на лейкоцит, как описано ранее [22]. Измерения флуоресценции проводили на флуоресцентном спектрофотометре “Model-850” (“Hitachi”, Япония) при  $\lambda_{\text{возб}} = 350$  нм и  $\lambda_{\text{эмис}} = 450$  нм. Общее количество лейкоцитов крови подсчитывали камерно-меланжерным методом с помощью камеры Горяева. Значение ИД лейкоцитов периферической крови интактных крыс (выраженные в отн. ед./кл) принимали соответствующим диплоидному (2с) содержанию ДНК белых клеток крови.

Увеличение величины ИД более 2с было обусловлено повышением количества клеток с гиперанеу/тетраплоидным содержанием ДНК, что было установлено в сопоставлении величин ИД с результатами цитогенетического анализа тех же проб в специальных экспериментах [22]. В этих опытах в качестве стандартного повреждающего воздействия крыс подвергали действию ртути и радиации в низких дозах: животным вводили  $\text{Hg}_2(\text{NO}_3)_2$  с питьевой водой в

концентрации 1 мкг/л в расчёте на ртуть (предельно допустимая концентрация) в течение 30 сут до и 30 сут после однократного рентгеновского облучения в дозе 25 сГр. После этого у крыс проводили определение величины ИД и числа хромосомных aberrаций обычным методом [107]. Количество гиперанеуплоидных и полиплоидных лимфоцитов у интактных крыс было 1,0–1,1%, а после примененного радиационно–ртутного воздействия оно достигало 2,0–2,2%. Соответствующие им величины ИД составляли 8,0–8,7 отн.ед/кл для контроля, и 14,8–16,0 отн.ед/кл после радиационно–ртутного воздействия. Регрессионный анализ индивидуальных значений числа гиперанеу– и полиплоидных лимфоцитов (%) и соответствующих им значений ИД лейкоцитов крови крыс выявил значимую ( $R = 0,99$ ,  $p < 0,01$ ) взаимосвязь между этими показателями:

$$\text{гиперанеу/полипл (\%)} = 0,1 + 0,14 \times \text{ИД (отн.ед./кл)}.$$

Таким образом, вышеописанный способ определения ИД в крови крыс, верифицированный в модельных радиационно–ртутных воздействиях, дал возможность оценить процент гиперанеуплоидных и полиплоидных лимфоцитов. Большинство генотоксических тестов, используемых для биотестирования повреждающих воздействий, требует достаточно длительного времени для определения соответствующих показателей. Для определения величины ИД необходимо всего 0,05 мл крови и 10–15 мин. Следовательно, использование этого показателя позволяет гораздо оперативнее осуществлять контроль и можно рекомендовать его для экспрессной оценки токсикогеномных эффектов физико–химических воздействий в клетках мелких лабораторных животных.

## **2.7. Аутопсия и гистологическая обработка тканей**

За крысами наблюдали в течение 16 месяцев. Животные регулярно взвешивались (1 раз в неделю), отмечались токсические проявления. Крыс в терминальном состоянии и оставшихся на момент окончания эксперимента забивали парами эфира. Всех павших и забитых крыс подвергали полной аутопсии. При аутопсии оценивалось состояние внутренних органов и тканей, величина

органов, изменение внешнего вида органов, полнокровие сосудов и органов, изменение окраски органов и тканей и другие патологические изменения или их отсутствие.

## 2.8. Порядок вскрытия и оценки органов

Подкожная клетчатка, шея, опорно–двигательный аппарат: подключичные лимфатические узлы, щитовидная железа, скелетная мускулатура; грудная полость: сердце, тимус, легкие (оба); брюшная полость: печень, селезенка, поджелудочная железа, надпочечники (оба), почки (обе), яичники (оба) у самок; органы малого таза и мошонки: матка (тело и рога) у самок, семенники (оба) у самцов, простата (все доли) у самцов; органы черепной коробки: головной мозг, гипофиз.

Органы с опухолями или подозрениями на опухолевый рост изымались для гистологического исследования.

## 2.9. Методика гистологического исследования

Фиксацию органов и тканей, изъятых при аутопсии проводили 10% формалином, забуференным дигидро– и монофосфатом натрия (БиоВитрум, Россия). После фиксации выполняли проводку с использованием раствора для гистологической проводки (обезвоживание и просветление) на основе изопропилового спирта с добавлением октилфеноксиполиэтоксиэтанола «IsoPrep» (БиоВитрум, Россия) по следующей схеме:

Станция	Реагент	Экспозиция
1	50%–ный водный раствор IsoPrep (смесь 1:1)	1 час.
2	IsoPrep	30 мин.
3	IsoPrep	30 мин.



4	IsoPrep	30 мин.
5	IsoPrep	1 час.
6	IsoPrep	1 час.
7	IsoPrep	2 час.
8	IsoPrep	3 час.
9	IsoPrep	3 час.
10	HISTOMIX	1 час.
11	HISTOMIX	3 час.
12	HISTOMIX	4 час.
Итого		20 час.30 мин.

Проводку выполняли на гистопротессоре карусельного типа АТ–4. На этапах с 10 по 11 использовали термостат суховоздушный ТС–80. В качестве заливочной среды (парафина) использовали гомогенизированную парафиновую среду с повышенной плотностью HISTOMIX® EXTRA (БиоВитрум, Россия). На этапах фиксации, проводки и заливки материал находился в пластиковых биопсийных кассетах с квадратными отверстиями 0,4 мм с крышечками (Bio Optica Milano, Италия). Заливку в блоки вели традиционным ручным способом с использованием заливочных форм из нержавеющей стали (Bio Optica Milano, Италия). Для приготовления гистологических препаратов использовали одноразовые микротомные ножи для серийных и мягких срезов Feather S35 (Япония), предметные стекла Menzel (Германия). Окраску проводили Гематоксилином–К (Карацци) (БиоВитрум, Россия) и водно–спиртовым раствором эозина (БиоВитрум, Россия). Окрашенные срезы заключали с помощью синтетической монтирующей среды Био Маунт (Bio Optica Milano, Италия).

Препараты анализировались методом световой микроскопии на лабораторном бинокулярном микроскопе «Leica» (Leica Microsystems, Германия).

Патоморфологическую диагностику опухолей крыс проводили согласно классификации Международного агентства по изучению рака [146].

## 2.10. Методы оценки влияния препаратов на радиационный канцерогенез

Оценивали влияние препаратов на параметры развития опухолей. Для анализа опухоли сгруппировали в 3 группы: молочной железы, эндокринных и репродуктивных органов, прочих локализаций. Рассчитывали частоту и множественность опухолей: общую и для каждой из трех групп; отдельно рассчитывали частоту и множественность злокачественных новообразований, как общую, так и для каждой из трех групп.

## 2.11. Статистическая обработка результатов

Расчет всех статистических показателей производился по отношению к эффективному числу крыс, то есть дожившим до выявления первого случая опухоли в своей серии экспериментов. Результаты эксперимента подвергали статистической обработке на персональном компьютере с помощью программ GraphPad Prism 6, STATISTICA 10. Вычисляли среднее арифметическое значение ( $M$ ), ошибку среднего ( $m$ ). Для статистического анализа показателей частоты использовали тест  $\chi^2$ , точный метод Фишера, множественности - t-критерий Стьюдента. Для поиска зависимостей между количественными данными вычислялся коэффициент корреляции Спирмена. Для сравнительной оценки антиканцерогенных эффектов препаратов частоту и множественность новообразований в группах облученного контроля принимали за 100% и для дальнейшего сравнения брали относительные показатели опытных групп, полученные с использованием следующей формулы:

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

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

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

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

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

Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

## **ГЛАВА III**

### **РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

#### **3.1. Гибель животных до выявления первой опухоли в эксперименте**

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

#### **3.2 Выживаемость животных в контрольных группах.**

В группе интактного контроля наблюдалась типичная для данной линии смертность, до 400 суток наблюдалась минимальная гибель животных, и на момент конца эксперимента в живых осталось 74% крыс.

В первой серии первая опухоль (лимфоидный лейкоз) была зарегистрирована у крысы из 1-й группы (интактный контроль) через 211 дней от начала эксперимента.

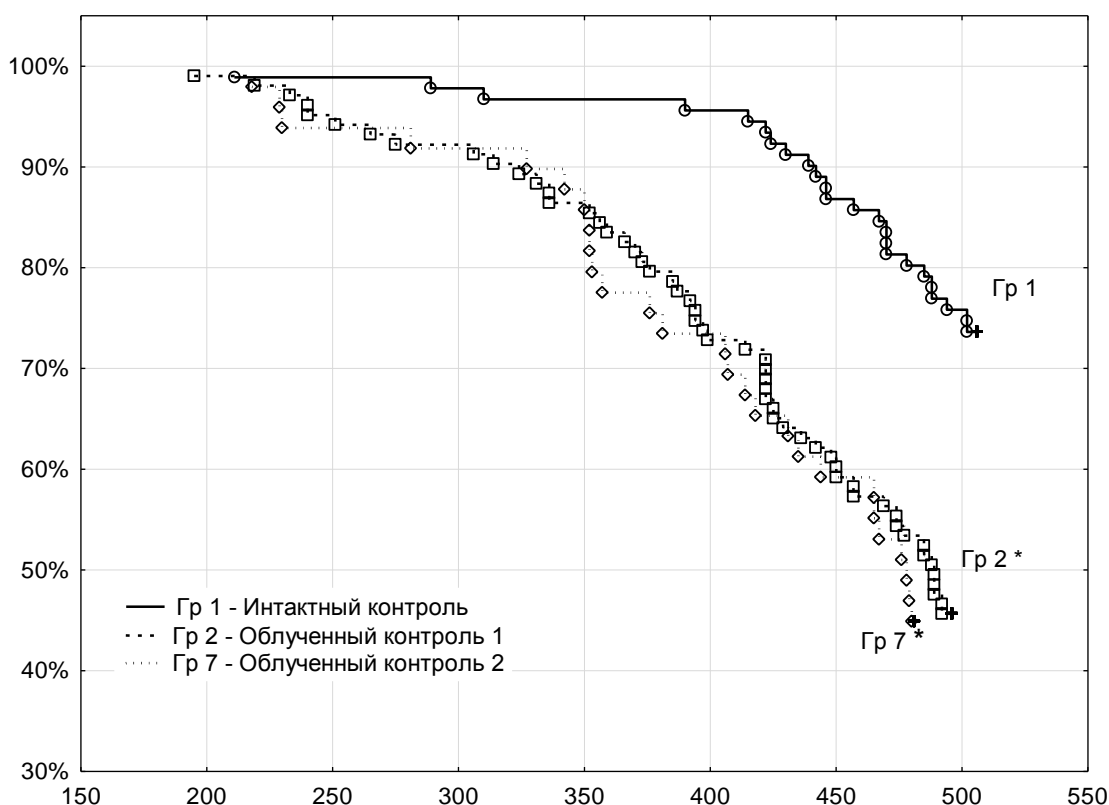


Рисунок 3.1. Влияние облучения на выживаемость крыс в контрольных группах. По оси абсцисс – время (сут), по оси ординат – % выживших животных в соответствующий момент времени

\* – log-rank  $P < 0,05$  по сравнению с интактным контролем

### 3.3. Спонтанное развитие опухолей у интактных животных

Показатели спонтанного канцерогенеза у самок крыс из 1–й группы интактного контроля представлены в таблице 3.1.

Новообразования диагностированы у 20 из 91 (21.9%) крыс, большинство опухолей молочной железы, эндокринных и репродуктивных органов были доброкачественными, тогда как среди опухолей прочих локализаций преобладали злокачественные (таблица 3.1). В частности, все 4 опухоли молочной железы были фиброаденомы. Среди новообразований эндокринных и репродуктивных органов зарегистрирована 1 злокачественная опухоль (аденокарцинома эндометрия) и 6 доброкачественных: 2 эндометриальных фиброзных полипа, 4 аденомы гипофиза. Из опухолей прочих локализаций выявлены злокачественные: лимфогенгелиосаркома легкого, фибросаркома преджелудка, фибросаркома

стенки брюшной полости, 2 лимфоидных лейкоза, злокачественная лимфома тимуса. Обнаружены и 3 доброкачественные опухоли: 2 аденомы легкого, гемангиоэндотелиома печени. Спектр опухолей, зарегистрированный в 1–й группе интактного контроля, характерен для спонтанного опухолевого фона самок крыс Вистар, наиболее часто встречались доброкачественные опухоли молочных желез и аденомы гипофиза, в других локализациях количество новообразований не превышало этого уровня.

Таблица 3.1. – Показатели спонтанного и радиационно–индуцированного канцерогенеза у крыс

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

из них злокачественные	6 (6,6%)	24 (23,3%) <sup>a</sup>	5 (12,5%)
Множественность	9 (0,10±0,02)	34 (0,33 ± 0,04) <sup>a</sup>	14 (0,35 ± 0,10) <sup>a</sup>
из них злокачественные	6 (0,07±0,03)	25 (0,24 ± 0,04) <sup>a</sup>	6 (0,15 ± 0,06)

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

### 3.4. Влияние $\gamma$ -облучения на выживаемость и канцерогенез у крыс

Средняя продолжительность жизни животных, погибших до конца эксперимента, во всех группах, где применялось облучение, была достоверно ниже, чем в интактном контроле (рисунок 3.1). Анализ выживаемости по кривым Каплан–Мейера, показывает, что во всех группах, где применялось облучение, наблюдалось ускорение гибели животных, начиная с 211 суток и до конца опыта, по сравнению с интактным контролем. По характеру кривых гибели между группами облученных крыс достоверных различий выявлено не было.

Несмотря на разное время начала экспериментов в первой и второй серии, показатели развития новообразований у крыс из групп облученного контроля были близки (таблица 3.1). Во 2–й и 7–й группах новообразования были диагностированы соответственно у 79.6 и 70% крыс, причем более чем у половины из них (43.7 и 45% по отношению ко всем эффективным животным) опухоли были злокачественными. Среди новообразований преобладали опухоли молочной железы, которые развивались у 57.3 и 52.5% крыс из контрольно облученных 2–й и 7–й групп, соответственно, на втором месте по частоте были опухоли эндокринных и репродуктивных органов (27.2 и 30%, соответственно), на третьем – опухоли прочих локализаций (21.2 и 25%, соответственно). Причем в группах облученного контроля (2–я и 7–я группы), существенно повышалась частота

злокачественных опухолей, которые развивались у 43.7, 45 % крыс, по сравнению с интактным контролем (1-я группа) - 7.7% крыс.

В основном, облучение значительно повышало частоту и множественность злокачественных опухолей молочной железы, которые вообще не были зарегистрированы в 1-й группе у интактных крыс, тогда как частота злокачественных опухолей молочной железа во 2-й и 7-й группах составила соответственно 19.4 и 32.5%.

Облучение значительно повышало также частоту и множественность новообразований эндокринных и репродуктивных органов и прочих локализаций, однако удельный вес злокачественных и доброкачественных опухолей для этих органов был примерно одинаковым в сравниваемых контрольных группах; как в 1-й группе, так и во 2-й и 7-й группах злокачественные новообразования преобладали среди прочих локализаций, а опухоли эндокринных и репродуктивных органов были преимущественно доброкачественными. У крыс 2-й группы среди новообразований молочной железы диагностированы 21 злокачественная опухоль (аденокарциномы – 20, злокачественная фиброзная гистиоцитома) и 63 – доброкачественные (фиброаденомы – 61, фибромы – 2). Всего у крыс 2-й группы было зарегистрировано 34 опухоли органов эндокринной и репродуктивной системы, среди которых 6 классифицированы как злокачественные: лейомиосаркома матки, цистоаденокарцинома яичника, злокачественные гранулезоклеточные опухоли яичников – 4. Остальные опухоли, отнесенные к этим локализациям, были доброкачественными: эндометриальные железисто-фиброзные полипы – 8, эндометриальные фиброзные полипы – 8, лейомиома матки, аденомы гипофиза – 7, цистоаденома яичника, ганглионевромы надпочечников – 3.

Из 34 опухолей прочих локализаций большинство (25) диагностированы как злокачественные: мезенхимальные опухоли почки – 2, липоматозная, железисто-папиллярная аденокарцинома и светлоклеточная аденокарцинома почки, злокачественная гемангиоэндотелиома печени, лимфоретикулосаркома и веретенклеточная фибросаркома легких, плоскоклеточный рак влагалища,



подкожная ангиосаркома, подкожные фибросаркомы – 2, забрюшинная злокачественная фиброзная гистиоцитома, забрюшинные фибросаркомы – 2, олигоастроцитомы головного мозга – 3, злокачественная невринома бедренной мышцы, лимфоидные лейкозы – 4, миелоидный лейкоз, злокачественная лимфома тимуса. Другие 7 опухолей были доброкачественными: аденомы легких – 5, аденомы толстой кишки – 3, подкожная гемангиома.

В 7-й группе у 21 (52,5%) из 40 крыс развивались множественные опухоли молочной железы, из 36 новообразований этой локализации более половины (21 опухоль) диагностированы как фиброаденомы, а остальные (15) – аденокарциномы. Из других локализаций несколько меньшую группу составили новообразования эндокринных и репродуктивных органов: 20 опухолей у 12 крыс, среди которых две были злокачественными – злокачественная гранулезоклеточная опухоль яичника и плоскоклеточный рак влагалища. Все другие опухоли, отнесенные к этой группе, были доброкачественными: аденомы гипофиза – 5, аденомы щитовидной железы – 3, эндометриальные железисто-фиброзные и фиброзные полипы – 9, ганглионеврома надпочечника. Кроме того, у 10 животных из 5-й группы, выявлены опухоли различных локализаций, которые объединены в группу "прочие". Из 14 опухолей этой группы 6 были злокачественными: мезенхимальная опухоль почки, аденокарцинома толстой кишки – 2, подкожная фибросаркома, плоскоклеточный рак кожи, лимфоидный лейкоз. Другие опухоли классифицированы как доброкачественные: аденома толстой кишки – 2, кавернозная гемангиома печени, папилломатоз мочевого пузыря, папилломатоз преджелудка – 4.

В целом, в группах облученного контроля первой и второй серий (2-я и 7-я группы), по сравнению с интактным контролем (1-я группа), были достоверно ( $p < 0,05$ ) повышены частота всех опухолей соответственно в 3,6 и 3,2 раза, частота злокачественных опухолей – в 5,7 и 5,8 раз, множественность всех опухолей – в 6,7 и 8,0 раз, множественность злокачественных опухолей – в 6,3 и 7,3 раз. Частота опухолей молочной железы во 2-й и 7-й группах, по сравнению с 1-й группой,

повышалась соответственно в 13,0 и 11,9 раз ( $p < 0,05$ ), а их множественность – в 20,5 и 22,5 раз ( $p < 0,05$ ).

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

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

### 3.5. Основные гистологические типы новообразований у крыс, подвергнутых воздействию $\gamma$ -излучения

Основные гистологические типы новообразований молочных желез представлены на рисунках 3.2 – 3.5.

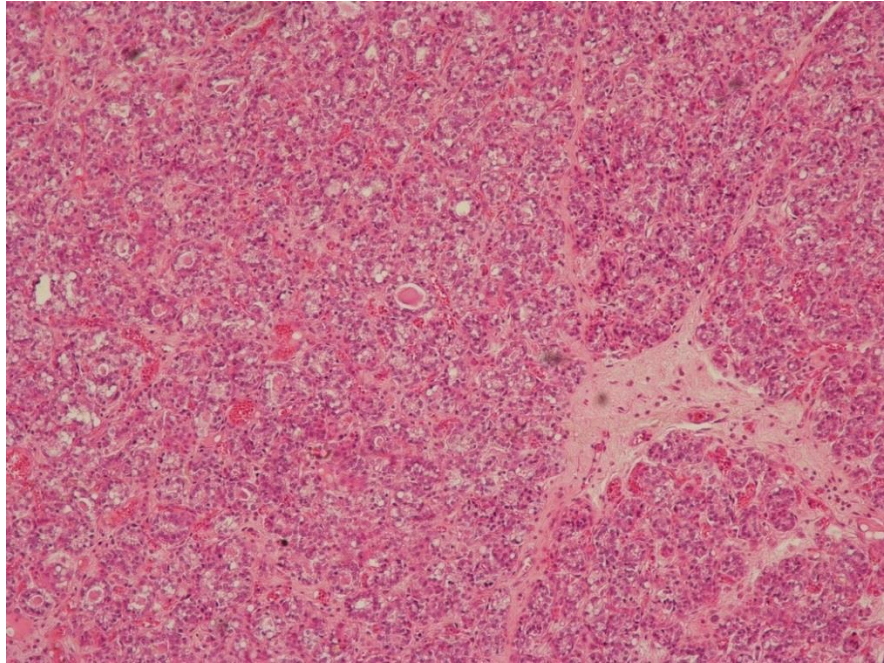


Рисунок 3.2. Аденокарцинома молочной железы. Окраска гематоксилин/эозин,  $\times 200$

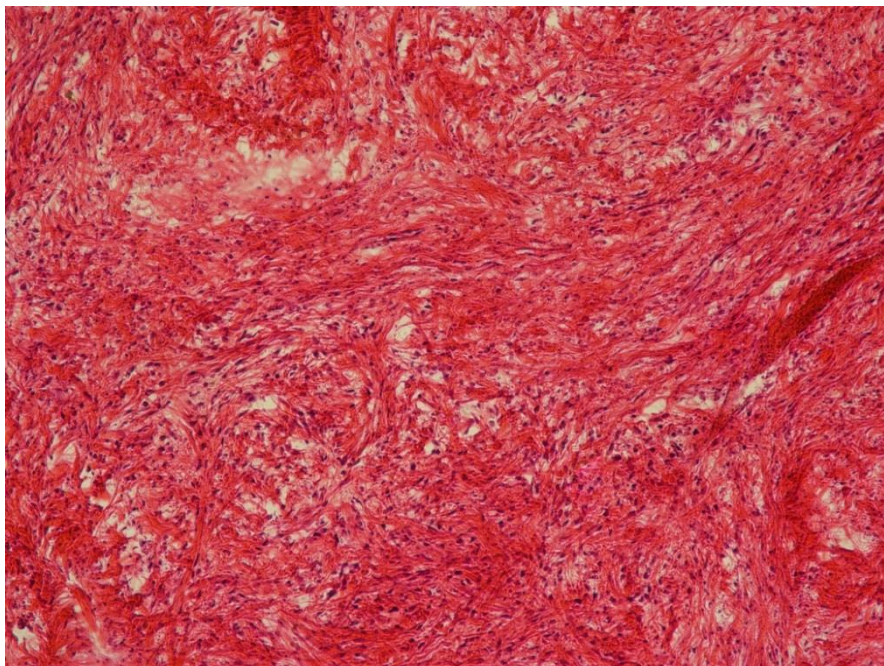


Рисунок 3.3. Фибросаркома молочной железы. Окраска гематоксилин/эозин,  $\times 200$

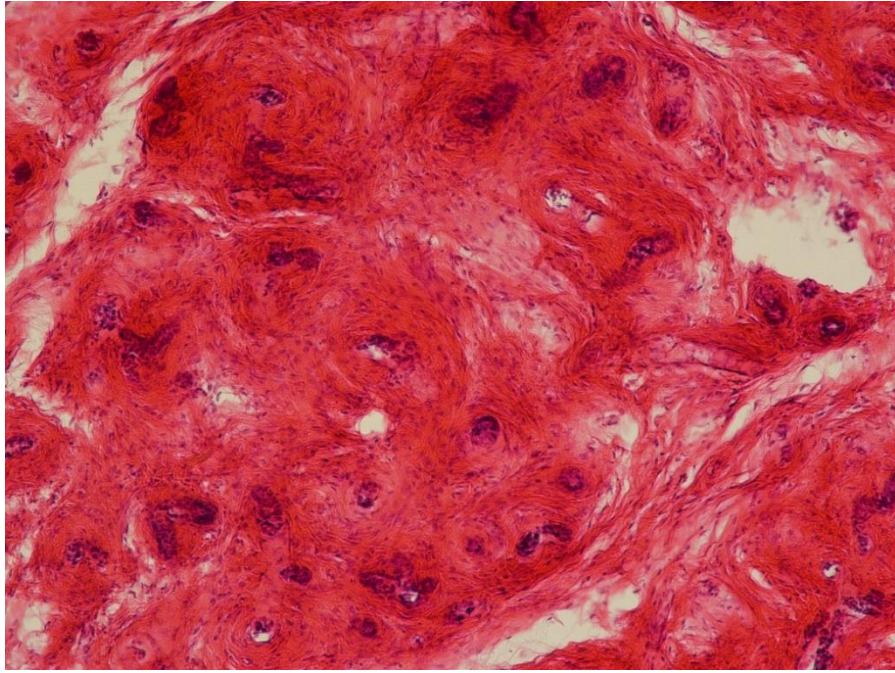


Рисунок 3.4. Фиброаденома молочной железы. Окраска гематоксилин/эозин,  $\times 200$

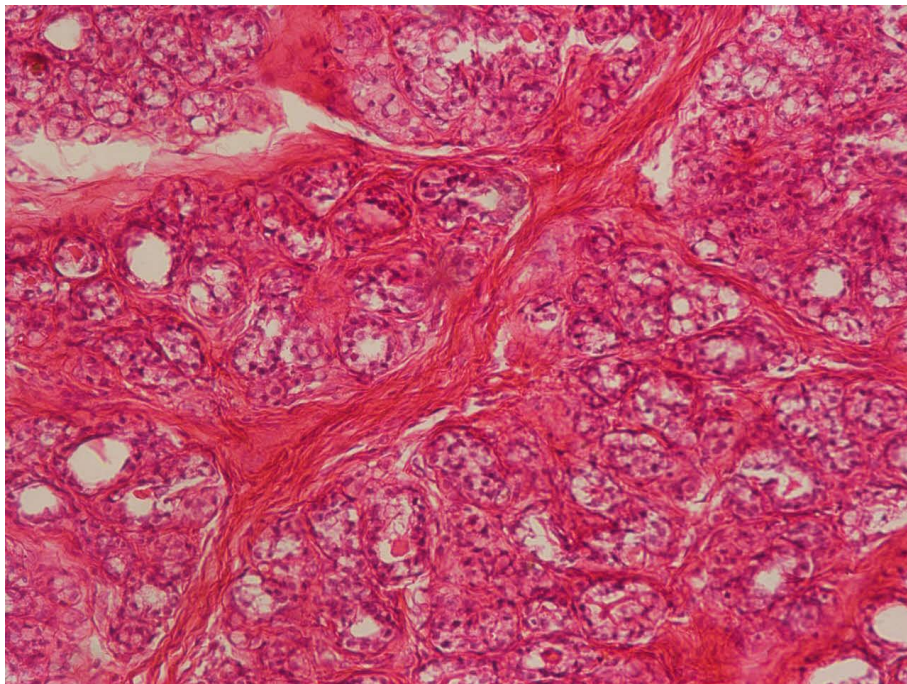


Рисунок 3.5. Фиброаденома молочной железы. Окраска гематоксилин/эозин,  $\times 200$

Основные гистологические типы новообразований эндокринных и репродуктивных органов представлены на рисунках 3.6 – 3.10.

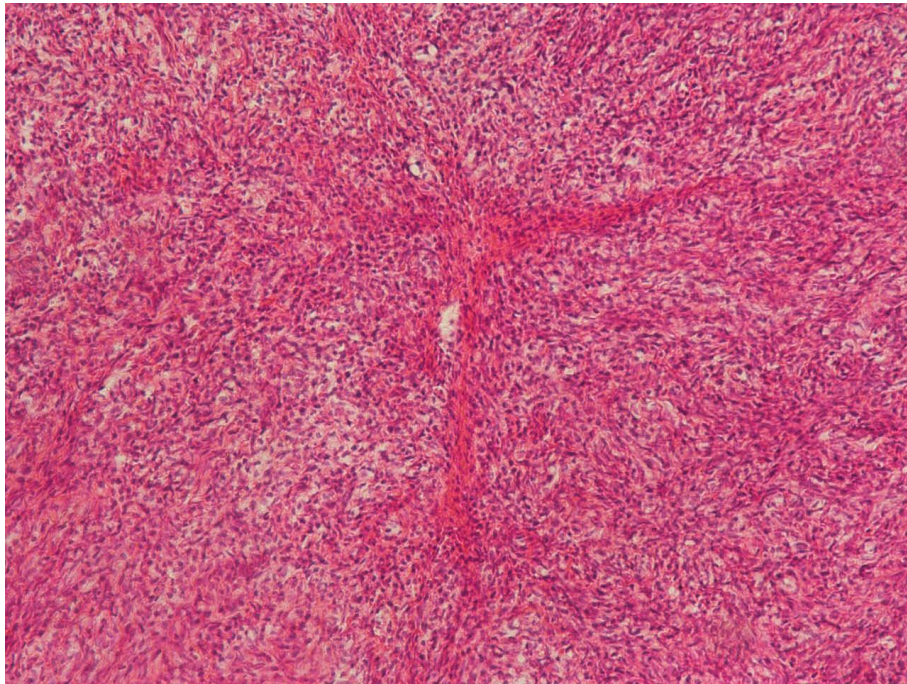


Рисунок 3.6. Злокачественная гранулезоклеточная опухоль яичника. Окраска гематоксилин/эозин,  $\times 200$

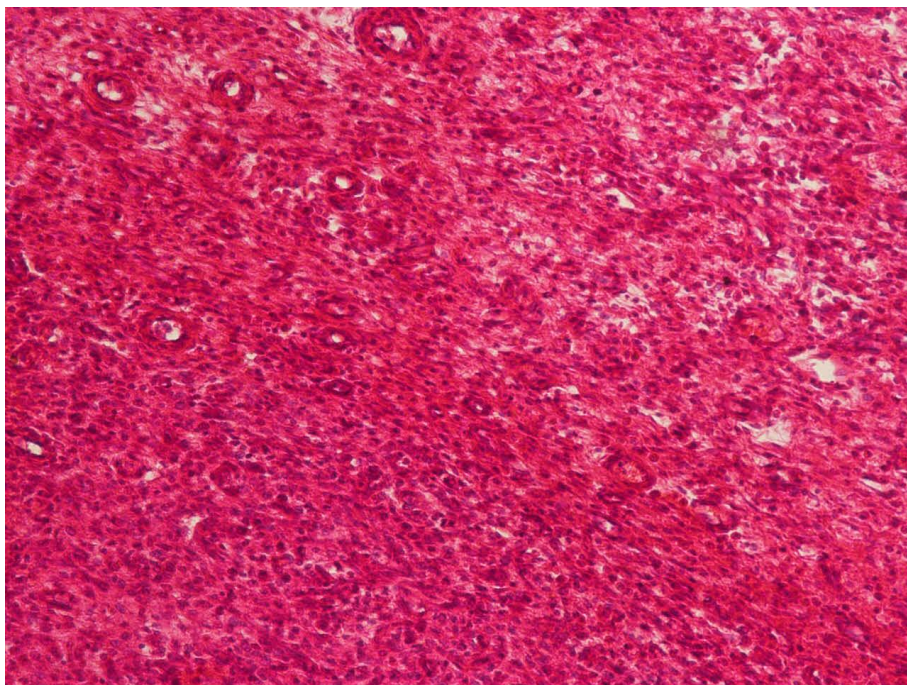


Рисунок 3.7. Лейомиосаркома тела матки. Окраска гематоксилин/эозин,  $\times 200$

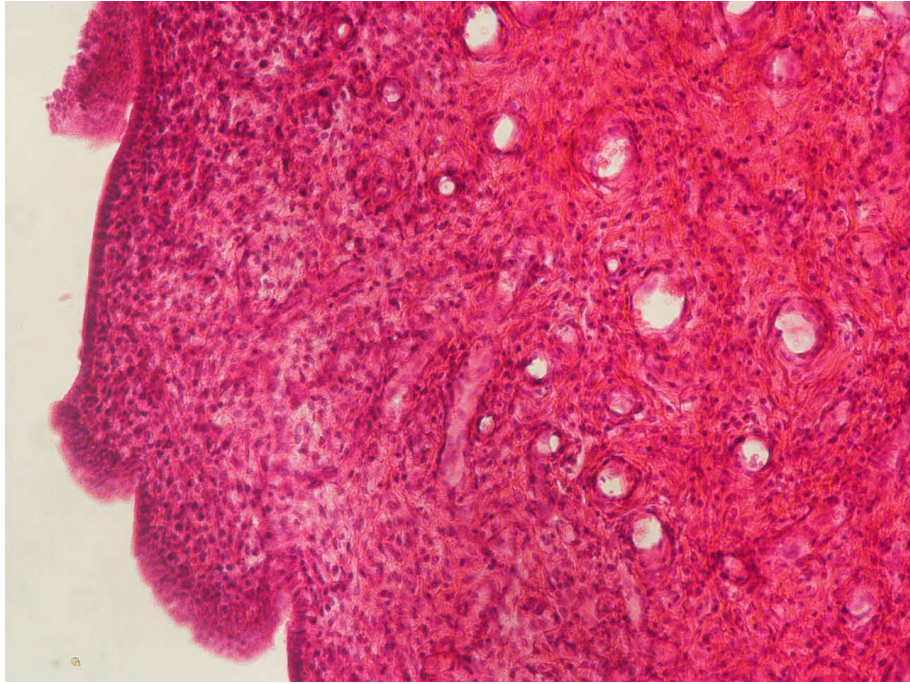


Рисунок 3.8. Железисто–фиброзный полип эндометрия. Окраска гематоксилин/эозин, ×200

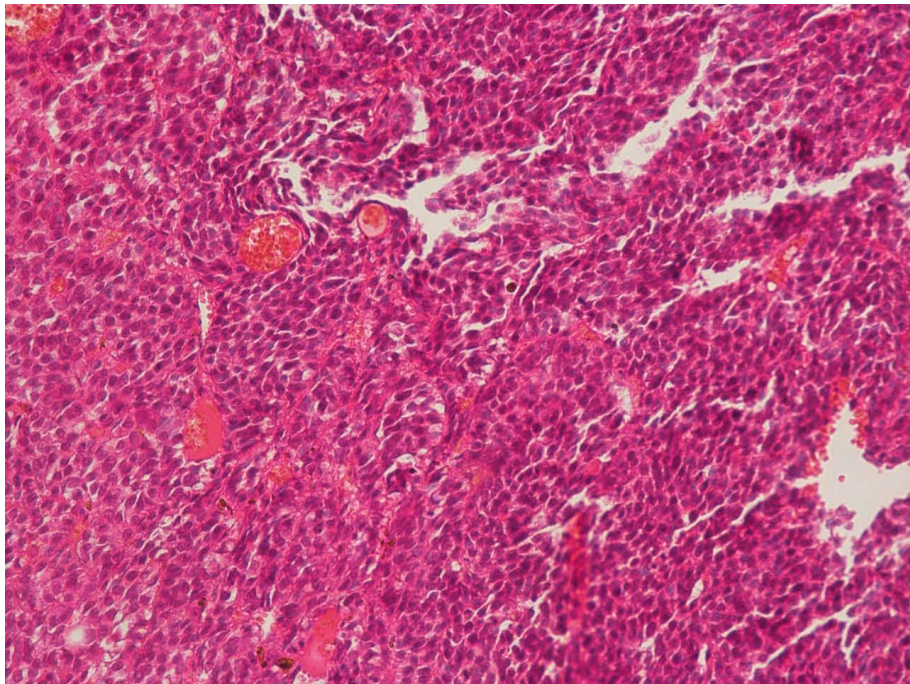


Рисунок 3.9. Аденома гипофиза. Окраска гематоксилин/эозин, ×200

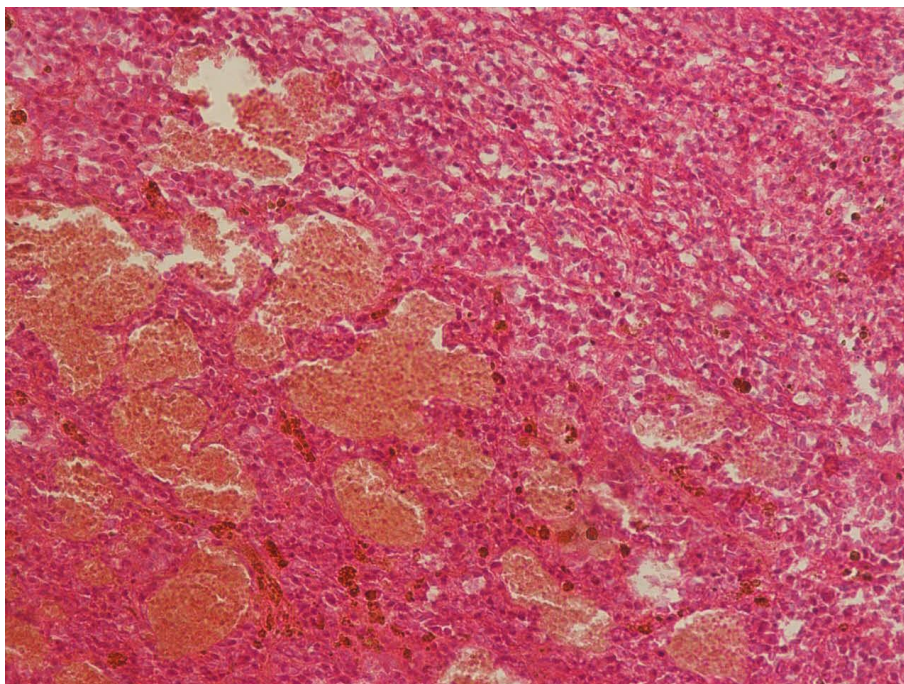


Рисунок 3.10. Аденома гипофиза. Окраска гематоксилин/эозин, ×200

Основные гистологические типы новообразований прочих локализаций представлены на рисунках 3.11 – 3.20.

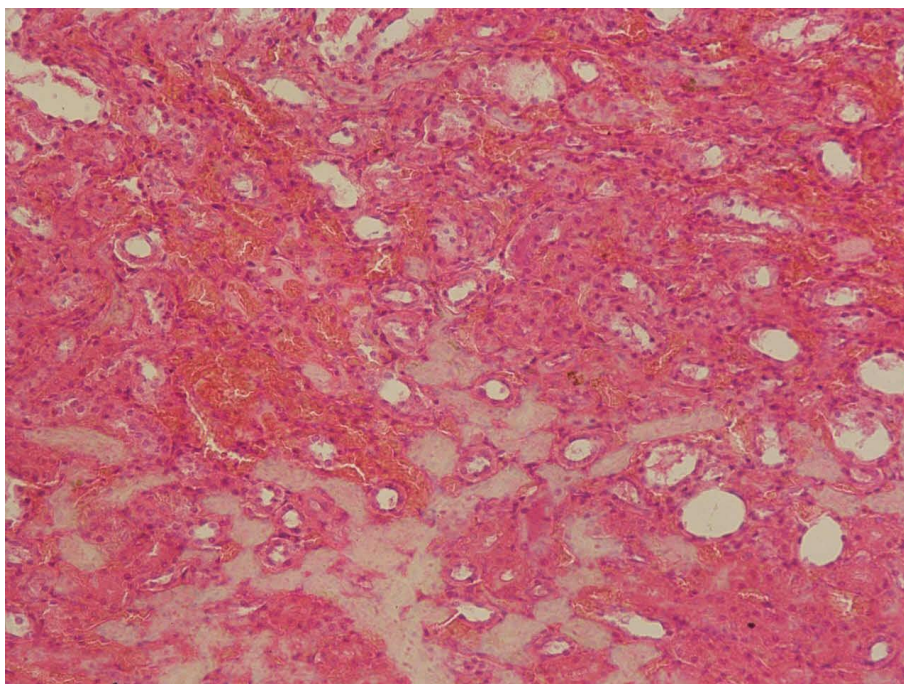


Рисунок 3.11. Светлоклеточная аденокарцинома почки. Окраска гематоксилин/эозин, ×200

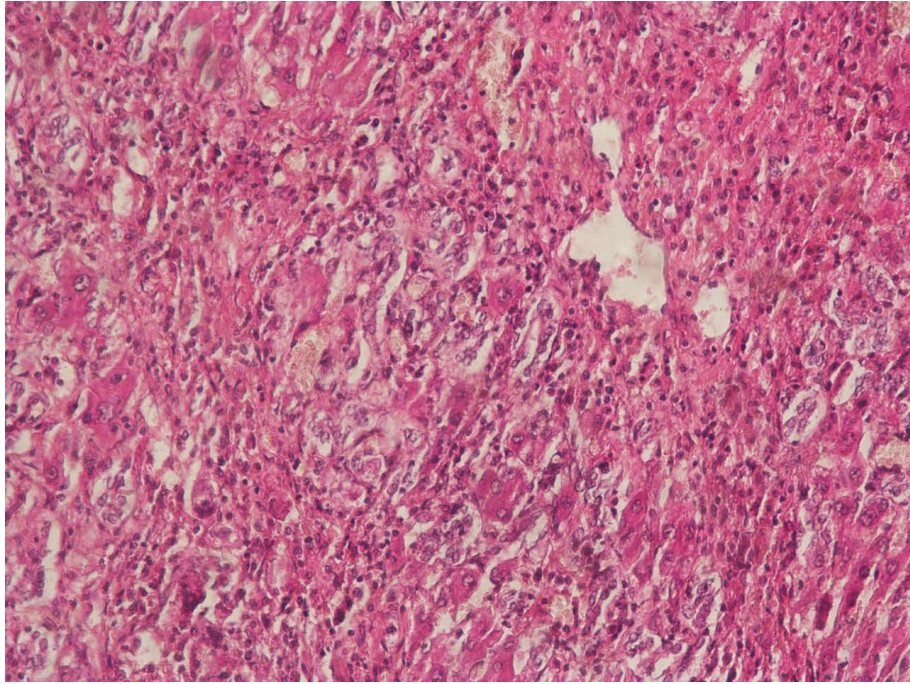


Рисунок 3.12. Гемангиосаркома печени. Окраска гематоксилин/эозин, ×200

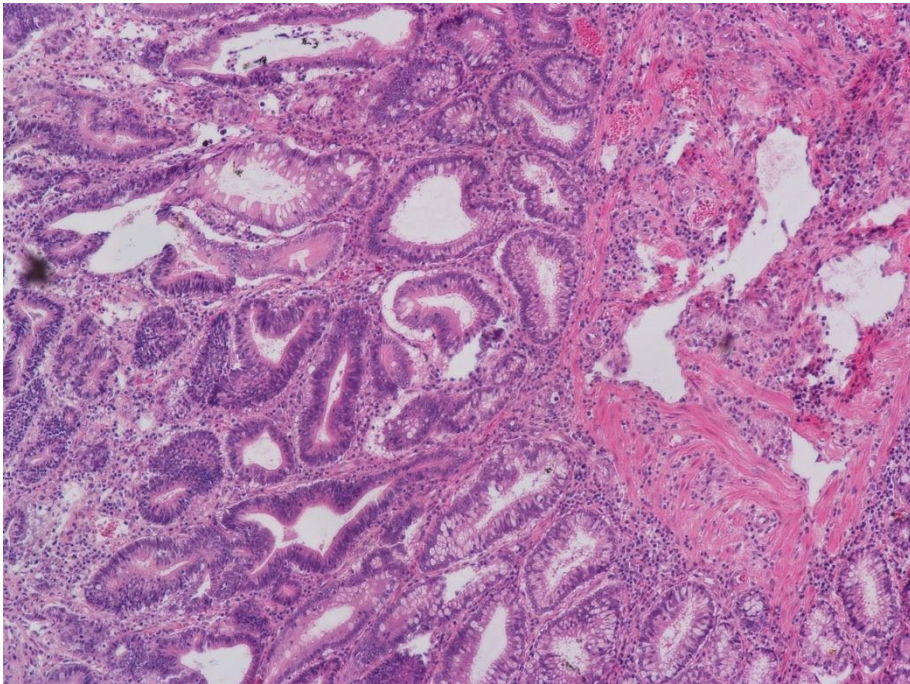


Рисунок 3.13. Аденокарцинома толстой кишки. Окраска гематоксилин/эозин, ×200



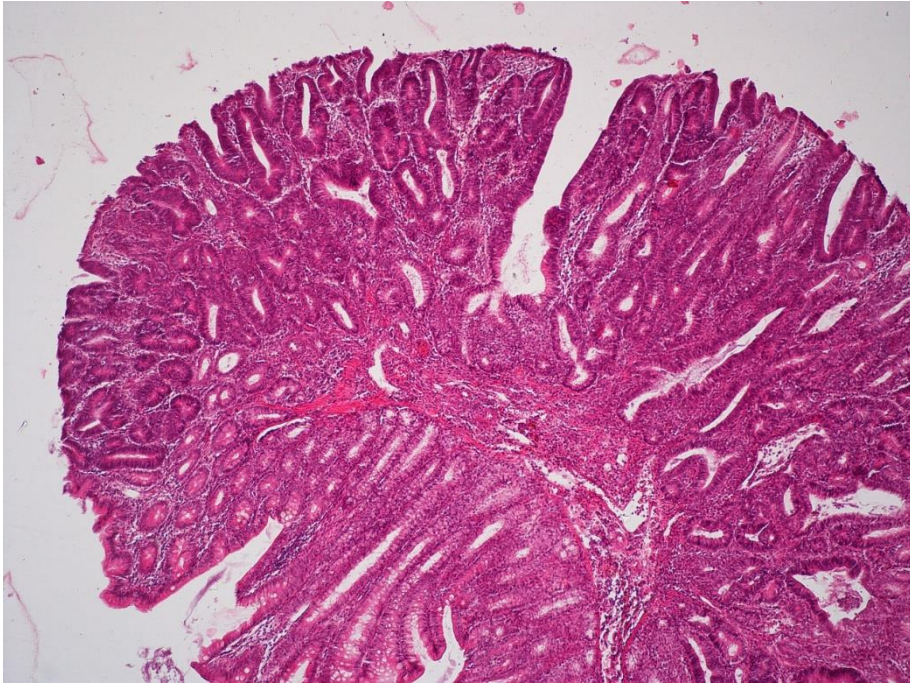


Рисунок 3.14. Аденоматозный полип толстой кишки. Окраска гематоксилин/эозин,  $\times 100$

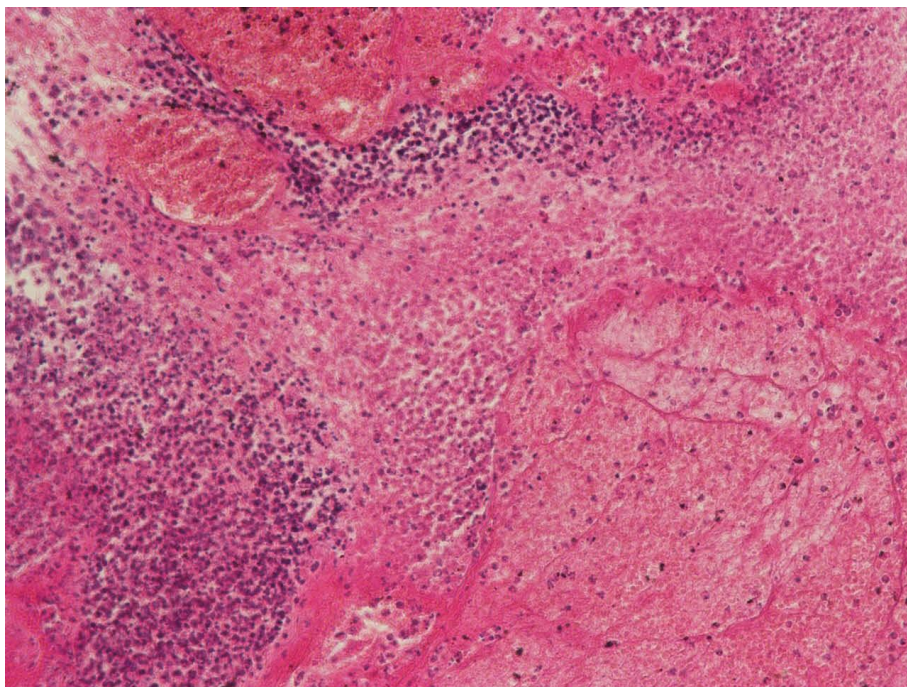


Рисунок 3.15. Злокачественная лимфома тимуса. Окраска гематоксилин/эозин,  $\times 200$

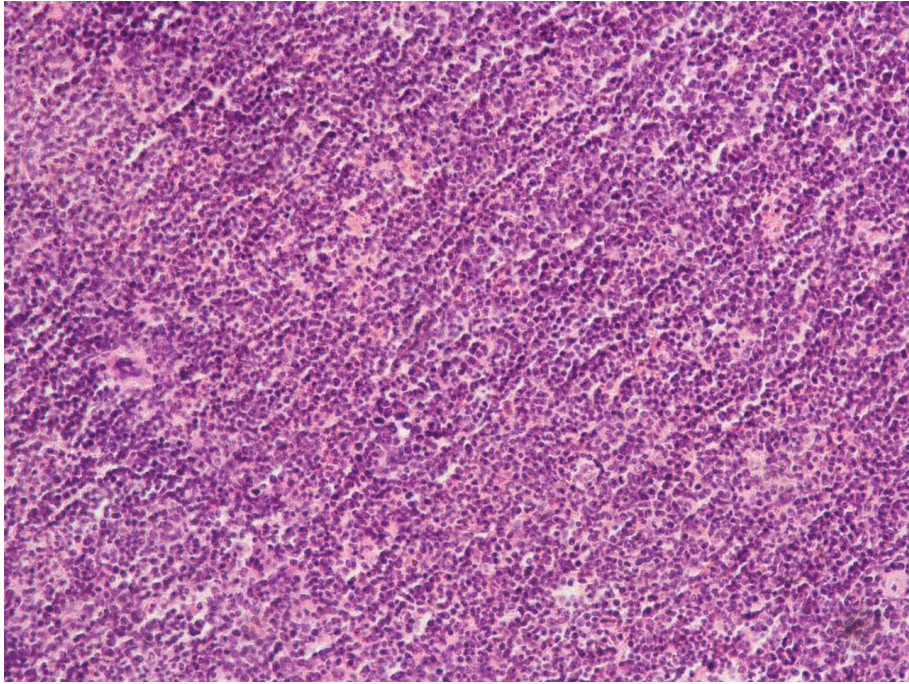


Рисунок 3.16. Лимфоцитарный лейкоз. Селезенка. Окраска гематоксилин/эозин, ×200

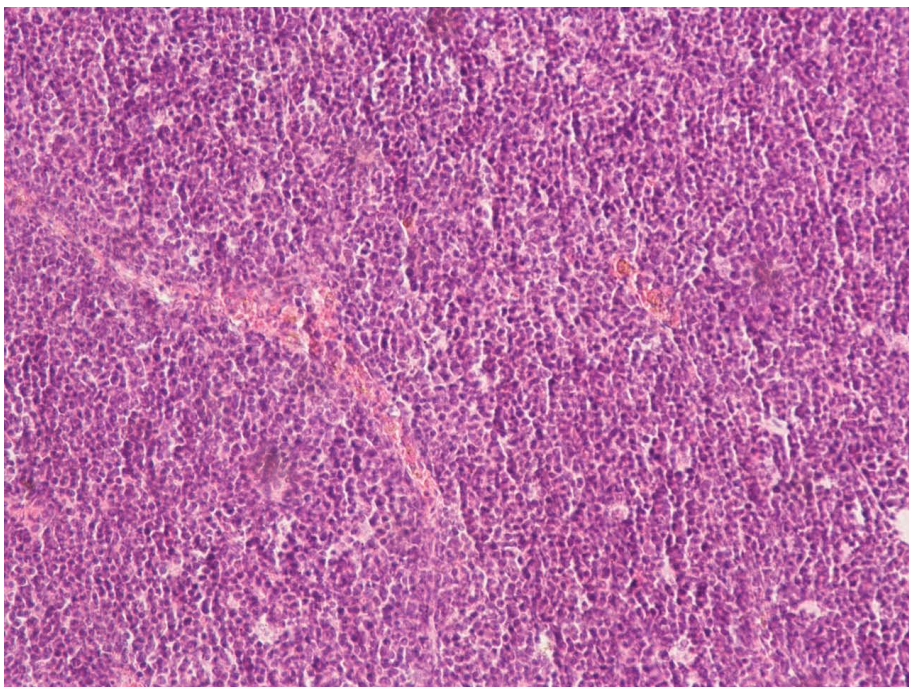


Рисунок 3.17. Лимфоцитарный лейкоз. Лимфатический узел. Окраска гематоксилин/эозин, ×200

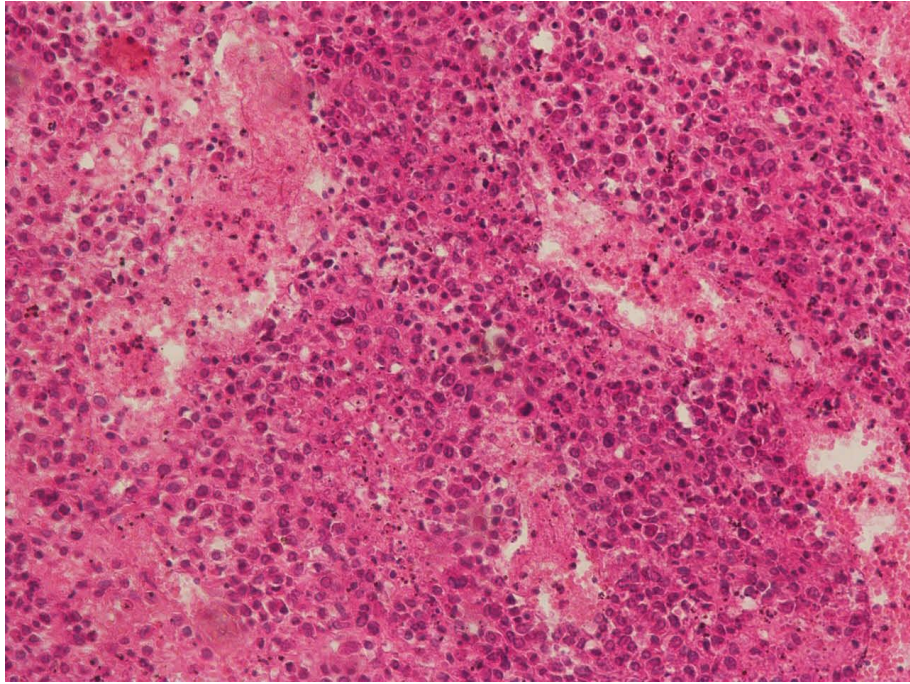


Рисунок 3.18. Ангиосаркома подчелюстной области. Окраска гематоксилин/эозин, ×200

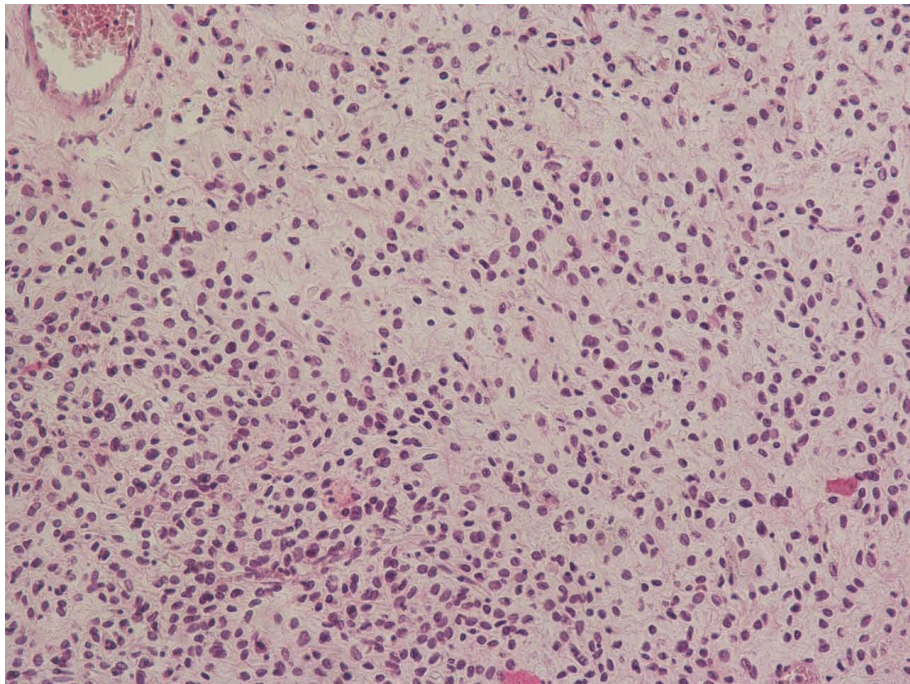


Рисунок 3.19. Злокачественная невринома брюшинного пространства. Окраска гематоксилин/эозин, ×200

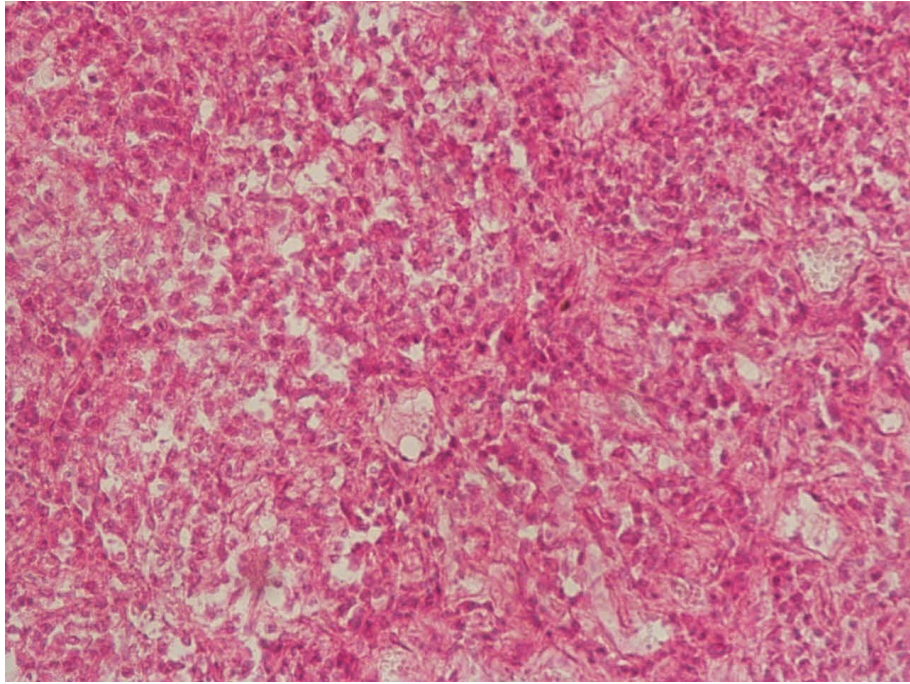


Рисунок 3.20. Злокачественная фиброзная гистиоцитома забрюшинного пространства. Окраска гематоксилин/эозин,  $\times 200$

### 3.6. Влияние $\alpha$ -дифторметилорнитина на радиационный канцерогенез у самок крыс

Влияние ДФМО на динамику выживаемости облученных крыс представлено на рисунке 3.21.

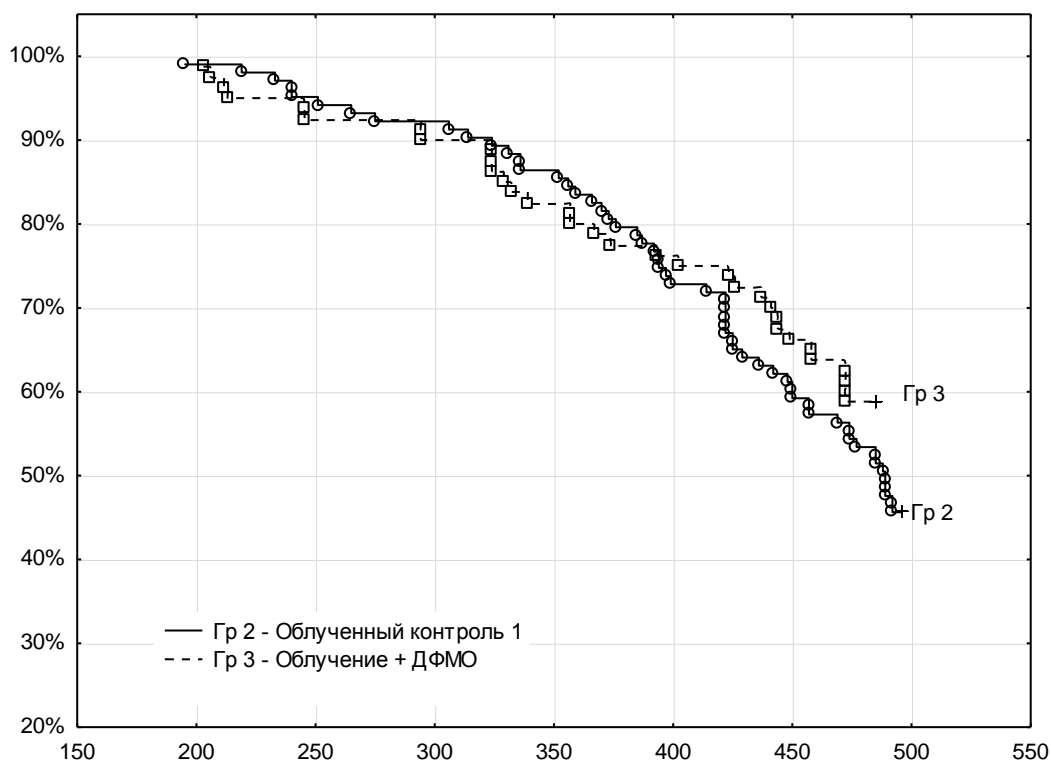


Рисунок 3.21. Влияние ДФМО на выживаемость облученных крыс.

По оси абсцисс – время (сут), по оси ординат – % выживших животных в соответствующий момент времени.

log-rank  $P > 0,05$  между группами

Из этих данных можно видеть, что между группой, получавшей ДФМО, и облученным контролем, не было обнаружено достоверных различий (рисунок 3.21). Анализ выживаемости по кривым Каплан–Мейера, показывает, что во всех группах, где применялось облучение, наблюдалось ускорение гибели животных, начиная с 211 суток и до конца опыта, по сравнению с интактным контролем. По характеру кривых гибели достоверных различий между группами контрольно облученных крыс и группой облучение+ДФМО отмечено не было.

В 3-й группе (облучение + ДФМО) опухоли возникли у 47 (58,7%) из 80 крыс (таблица 3.2). По сравнению с интактным контролем, частота и множественность опухолей как общая, так и отдельно для молочной железы, эндокринных и репродуктивных органов, были выше ( $p < 0,05$ ). Однако, по сравнению со 2-й группой (облученный контроль), в 3-й группе общая частота и множественность опухолей, в том числе злокачественных, были достоверно ( $p < 0,05$ ) ниже на 20,9% и в 1,4 раза, на 26,2% и в 2,6 раза, соответственно. В 3-й группе также чаще всего возникали опухоли молочной железы – у 32 (40%) животных, однако, по сравнению со 2-й группой, частота и множественность новообразований данной локализации, в том числе злокачественных, были достоверно ( $p < 0,05$ ) ниже на 17,3% и в 1,3 раза, на 14,4% и в 4,0 раза, соответственно. В 3-й группе довольно частыми были опухоли эндокринных и репродуктивных органов, которые обнаружены у практически у трети (31,2%) животных, причем частота и множественность всех опухолей данной группы и отдельно злокачественных новообразований не отличались достоверно от 2-й группы. Показатели развития опухолей прочих локализаций в 3-й группе были практически такими же, как в интактном контроле, причем по сравнению со 2-й группой, частота и множественность данных новообразований, в том числе злокачественных, были достоверно ( $p < 0,05$ ) ниже на 19,1% и в 3,0 раза, на 14,6% и в 2,4 раза, соответственно (таблица 3.2).

У крыс 3-й группы обнаружено 50 опухолей молочной железы, из которых 4 были злокачественные (аденокарциномы – 3, злокачественная фиброзная гистиоцитома) и 46 – доброкачественные (все фиброаденомы); диагностированы 25 опухолей эндокринных и репродуктивных органов, из которых 3 были злокачественные (все 3 – гранулезоклеточные опухоли яичников) и 22 – доброкачественные (эндометриальные железисто-фиброзные полипы – 14, эндометриальные фиброзные полипы – 4, аденомы гипофиза – 4); среди 9 опухолей прочих локализаций выявлено 8 злокачественных (мезенхимальные опухоли почки – 4, светлоклеточные аденокарциномы почки – 2, аденокарцинома легкого, гемангиосаркома печени) и 1 – доброкачественная (аденома толстой кишки).

Таблица 3.2. – Влияние ДФМО на радиационный канцерогенез у крыс

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

Примечание. Частота – абсолютное число крыс с опухолями (% по отношению к эффективному числу крыс); множественность – абсолютное количество опухолей (средняя величина по отношению к эффективному числу крыс,  $M \pm m$ ) в

соответствующей группе. Разница статистически достоверна ( $p < 0,05-0,001$ ): <sup>a</sup> с группой интактного контроля, <sup>b</sup> с группой облученного контроля

### 3.7. Влияние настойки корня элеутерококка колючего на радиационный канцерогенез у крыс

Влияние элеутерококка на выживаемость облученных крыс представлено на рисунке 3.22.

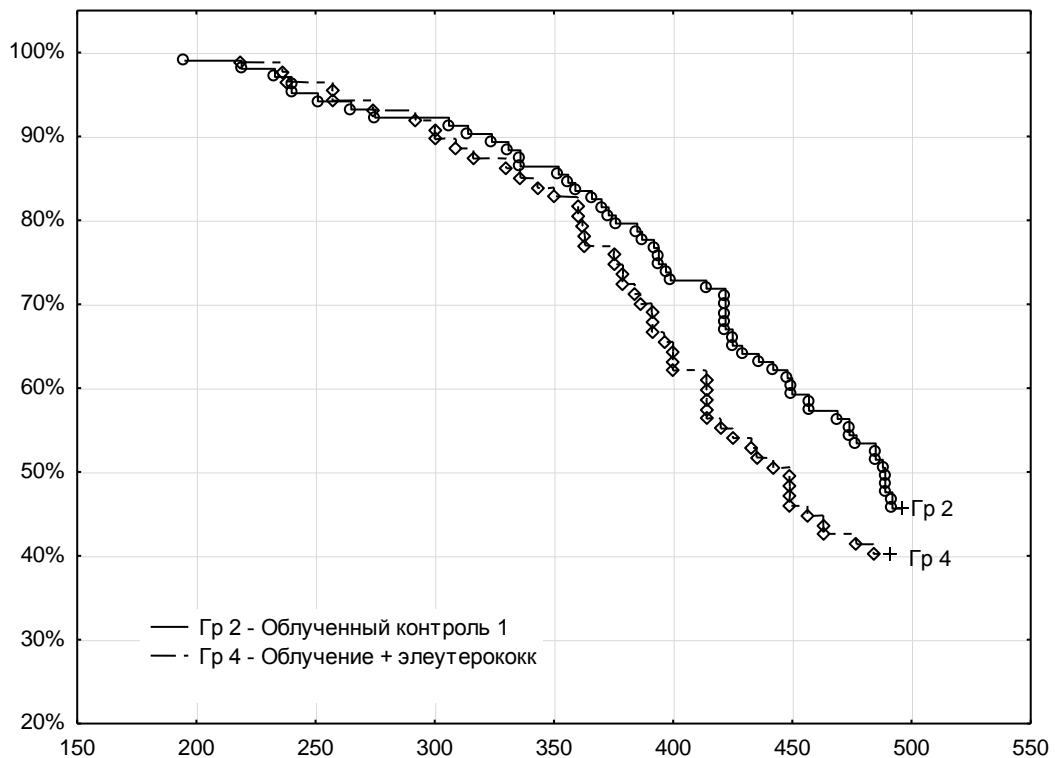


Рисунок 3.22. Влияние элеутерококка на выживаемость облученных крыс.

По оси абсцисс – время (сут), по оси ординат – % выживших животных в соответствующий момент времени.

log-rank  $P > 0,05$  между группами

Из графика можно видеть, что между группой, получавшими препарат элеутерококка, и облученными контролями, не было обнаружено достоверных различий (рисунок 3.22). Анализ выживаемости по кривым Каплан–Мейера, показывает, что во всех группах, где применялось облучение, наблюдалось



ускорение гибели животных, начиная с 211 суток и до конца опыта, по сравнению с интактным контролем.

В 4-й группе (Облучение + элеутерококк) опухоли обнаружены у 54 (62.1%) из 87 животных (таблица 3.3). По сравнению с интактным контролем, частота и множественность опухолей как общая, так и отдельно для молочной железы, эндокринных и репродуктивных органов, были выше. Однако в 4-й группе, по сравнению со 2-й группой (облученный контроль), общая частота и множественность опухолей были достоверно ( $p < 0,05$ ) ниже на 22 и 26.4%, соответственно; при этом общая частота злокачественных опухолей была достоверно ( $p < 0,05$ ) меньше на 36.8%, а их множественность – недостоверно меньше на 26.4%. В 4-й группе, как и в других, где крысы подвергались облучению, чаще всего возникали опухоли молочной железы – в 47.1% случаев. По сравнению с облученным контролем у крыс 4-й группы были меньше частота и множественность всех опухолей молочной железы на 17.8 и 15.9%, соответственно, а также отдельно частота злокачественных новообразований данной локализации – на 17%. Показатели частоты и множественности опухолей эндокринных и репродуктивных органов у крыс 4-й группы значимо не отличались от аналогичных показателей у животных 2-й группы. Все показатели для опухолей прочих локализаций у крыс 4-й группы были существенно и статистически значимо ниже, чем во 2-й группе: суммарная частота опухолей и частота злокачественных новообразований – соответственно на 60.5 и 57.6%; множественность всех опухолей и множественность отдельно злокачественных новообразований – соответственно на 55.8 и 54.2%. Показатели развития опухолей прочих локализаций в группе с применением элеутерококка были близки к группе интактного контроля (таблица 3.3).

У крыс в 4-й группе по гистологическому типу были диагностированы 20 злокачественных опухолей молочной железы (аденокарциномы – 19, веретеноклеточная фибросаркома) и 40 – доброкачественных (фиброаденомы). Среди опухолей эндокринных и репродуктивных органов выявлены 2 злокачественные (гранулезоклеточные опухоли яичников – 2) и 21 –

доброкачественная (эндометриальные железисто-фиброзные полипы – 10, эндометриальные фиброзные полипы – 4, аденомы гипофиза – 7). Среди прочих

Таблица 3.3. – Влияние элеутерококка на радиационный канцерогенез у крыс

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

Множественность	9 (0,10±0,02)	34 (0,33 ± 0,04) <sup>a</sup>	12 (0,14 ± 0,04) <sup>б</sup>
из них злокачественные	6 (0,07±0,03)	25 (0,24 ± 0,04) <sup>a</sup>	10 (0,11 ± 0,04) <sup>б</sup>

Примечания те же, что и к таблице 3.2.

опухолей 10 были злокачественными (светлоклеточные аденокарциномы почки – 3, железистая аденокарцинома и солидная аденокарцинома почки; злокачественная фиброзная гистиоцитома брыжейки кишечника; подкожная злокачественная фиброзная гистиоцитома, подкожная фибросаркома; невринома забрюшинного пространства и ангиосаркома бедренной мышцы) и 2 – доброкачественные (аденома легких и аденома толстой кишки).

Таким образом, элеутерококк предупреждает радиационный канцерогенез, снижая общую частоту и множественность как злокачественных, так и доброкачественных опухолей. Элеутерококк слабо снижает частоту и множественность злокачественных и доброкачественных опухолей молочной железы, эндокринных и репродуктивных органов, но значительно уменьшает частоту и множественность злокачественных и доброкачественных опухолей прочих локализаций.

### **3.8. Влияние отвара цветков лабазника вязолистного на радиационный канцерогенез у самок крыс**

Влияние лабазника на выживаемость облученных крыс представлены на рисунке 3.23. Из графика можно видеть, что между группой, получавшей препарат лабазника, и облученным контролем, не было обнаружено достоверных различий (рисунок 3.23). Анализ выживаемости по кривым Каплан–Мейера, показывает, что во всех группах, где применялось облучение, наблюдалось ускорение гибели животных, начиная с 211 суток и до конца опыта, по сравнению с интактным контролем. Достоверных различий по характеру кривых гибели облученных крыс между группами не было отмечено.

К концу эксперимента у животных 5–й группы общая частота опухолей составила 72%, а множественность 1,16 (таблица 3.4). При сравнении с этими показателями у крыс 2–й группы (облученный контроль) оказалось, что по частоте

они были близкими, тогда как по общей множественности достоверно ( $p < 0,05$ ) снижены – в 1,3 раза. С другой стороны частота злокачественных опухолей была снижена в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольно облученной группой.

При сопоставлении спектра новообразований у крыс в 5– и 2–й группах не выявлялось заметных различий. В 5–й группе у животных чаще всего

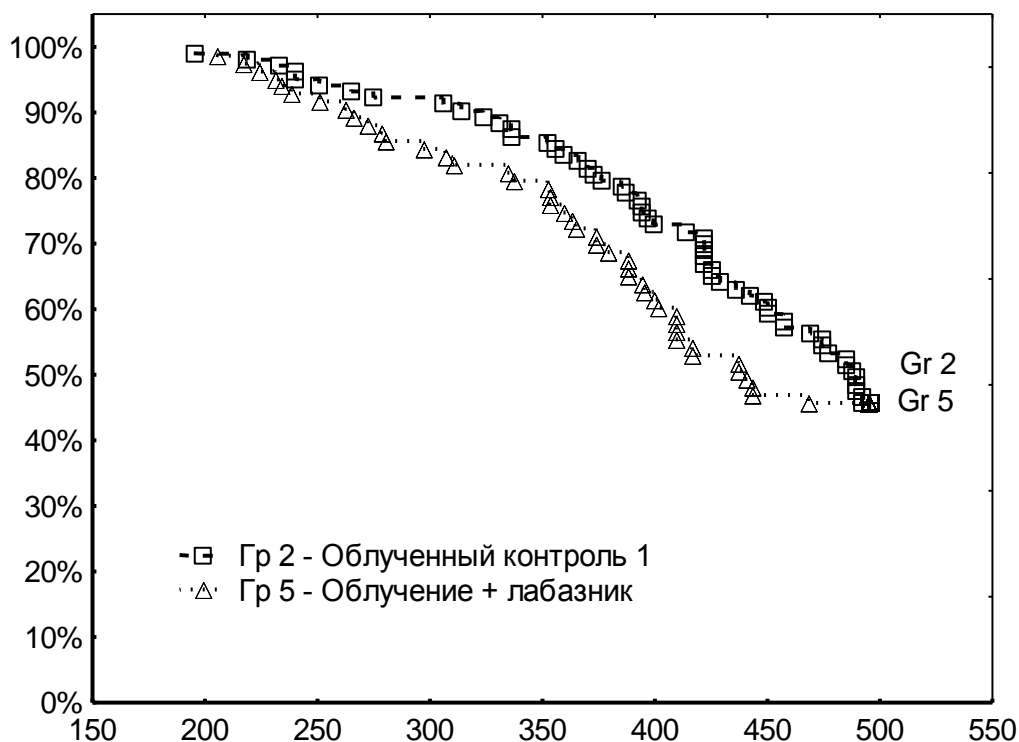


Рисунок 3.23. Влияние лабазника на выживаемость облученных крыс.

По оси абсцисс – время (сут), по оси ординат – % выживших животных в соответствующий момент времени.

log-rank  $P > 0,05$  между группами

возникали опухоли молочной железы – в 39,2% с множественностью 0,51, которые в сравнении со 2–й группой статистически достоверно ( $p < 0,05$ ) были ниже – в 1,5 и 1,6 раза, соответственно.

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

Всего у крыс 5–й группы обнаружено 40 опухолей молочной железы, из которых 7 были злокачественные (все аденокарциномы) и 33 – доброкачественные (31 фиброаденома, тубулярная аденома, фиброма); диагностированы 23 опухоли эндокринных и репродуктивных органов, из которых 2 были злокачественные (обе – гранулезоклеточные опухоли яичников) и 21 – доброкачественные (эндометриальные железисто–фиброзные полипы – 11, эндометриальные

Таблица 3.4. – Влияние введения препарата лабазника на радиационный канцерогенез у крыс

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

Опухоли прочих локализаций			
Частота	9 (9,9%)	30 (29,1%) <sup>a</sup>	26 (32,9%) <sup>a</sup>
из них злокачественные	6 (6,6%)	24 (23,3%) <sup>a</sup>	17 (21,5%) <sup>a</sup>
Множественность	9 (0,10±0,02)	34 (0,33 ± 0,04) <sup>a</sup>	29 (0,37±0,06) <sup>a</sup>
из них злокачественные	6 (0,07±0,03)	25 (0,24 ± 0,04) <sup>a</sup>	19 (0,24±0,05) <sup>a</sup>

Примечания те же, что и к таблице 3.2.

фиброзные полипы – 4, аденомы гипофиза – 5, гемангиома гипофиза); среди 29 опухолей прочих локализаций выявлено 19 злокачественных (светлоклеточные аденокарциномы почки – 4, железистая аденокарцинома почки, папиллярная аденокарцинома почки, ангиосаркома брыжейки кишечника, злокачественная лимфома брыжейки кишечника, плоскоклеточный рак влагалища, подкожная фиброзная гистиоцитома, подкожная фибросаркома, злокачественная фиброзная гистиоцитома забрюшинного пространства, лимфоидные лейкозы – 5, гранулоцитарный лейкоз, лимфома тимуса ) и 10 – доброкачественных (аденомы легких – 3, аденомы толстой кишки – 3, гемангиомы печени – 2, фибромы бедренной мышцы – 2).

Таким образом, в результате длительного применения препарата лабазник можно достоверно затормозить радиационно-индуцированный у крыс. Наиболее отчетливо ингибирующая активность лабазник проявилась в отношении опухолей молочной железы, которые были наиболее частыми для использованной модели.

### **3.9. Влияние настойки корня левзеи сафлоровидной на радиационный канцерогенез у самок крыс**

Влияние левзеи на выживаемость облученных крыс представлены на рисунке 3.24. Из графика можно видеть, что между группой, получавшей препарат левзеи, и облученным контролем, не было обнаружено достоверных различий. Анализ выживаемости по кривым Каплан–Мейера, показывает, что во всех группах, где применялось облучение, наблюдалось ускорение гибели животных, начиная с 211

суток и до конца опыта, по сравнению с интактным контролем. Достоверных различий по характеру кривых гибели облученных крыс между группами не было отмечено.

В группе облучение+левзея (Группа 6) новообразования были обнаружены у 59 (73.8%) из 80 животных (таблица 3.5). По сравнению с интактным контролем, частота и множественность опухолей как общая, так и отдельно для молочной железы, эндокринных и репродуктивных органов, были выше, чем в интактном контроле.

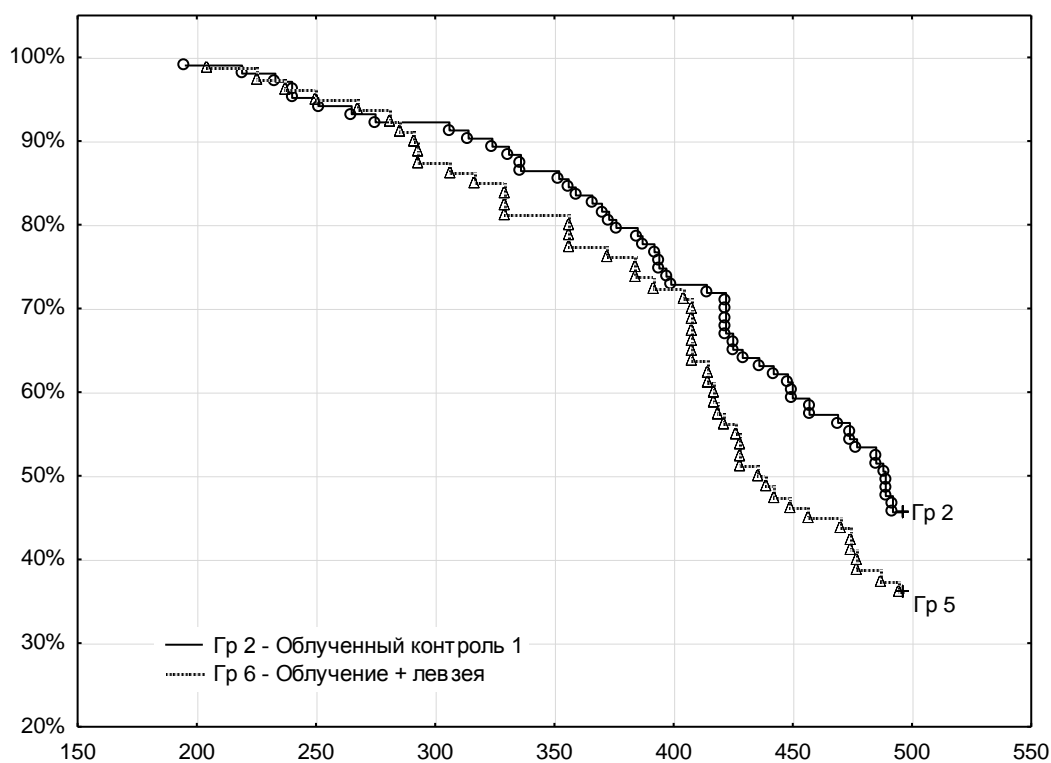


Рисунок 3.24. Влияние левзеи на выживаемость облученных крыс.

По оси абсцисс – время (сут), по оси ординат – % выживших животных в соответствующий момент времени.

log-rank  $P > 0,05$  между группами

Общая частота и множественность опухолей не отличались достоверно от 2-й группы (облученный контроль), хотя и были снижены на 7.3% и 12.2%, соответственно. Общая частота и множественность злокачественных опухолей

также не отличались достоверно от 2-й группы, наблюдалось только снижение частоты на 5.7%. В 6-й группе, также как и во 2-й группе, чаще всего возникали опухоли молочной железы – в 55% случаев. Для отдельных новообразований, по сравнению с облученным контролем 2-й группы, в 6-й группе, большинство показателей частоты и множественности опухолей молочной железы, эндокринных и репродуктивных органов и прочих локализаций несколько снижались, но ни в одном случае между группами не было статистической значимости (таблица 3.5).

В 6-й группе было выявлено 22 злокачественные опухоли молочной железы: 20 аденокарцином, полиморфная фибросаркома, злокачественная

Таблица 3.5. – Влияние введения препарата левзеи на радиационный канцерогенез у самок крыс

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



из них злокачественные	1 (0.01±0.01)	6 (0.06 ± 0.02)	3 (0.04 ± 0.02) <sup>a</sup>
Опухоли прочих локализаций			
Частота	9 (9,9%)	30 (29,1%) <sup>a</sup>	17 (21,2%) <sup>a</sup>
из них злокачественные	6 (6,6%)	24 (23,3%) <sup>a</sup>	13 (16,2%) <sup>a</sup>
Множественность	9 (0,10±0,02)	34 (0,33 ± 0,04) <sup>a</sup>	21 (0,26 ± 0,06) <sup>a</sup>
из них злокачественные	6 (0,07±0,03)	25 (0,24 ± 0,04) <sup>a</sup>	16 (0,20 ± 0,06) <sup>a</sup>

Примечания те же, что и к таблице 3.2.

фиброзная гистиоцитома; остальные были доброкачественными – 42 фиброаденомы. Среди опухолей эндокринных и репродуктивных органов было обнаружено 3 злокачественных: 2 гранулезоклеточных опухоли яичников, лейомиосаркома влагалища; и 16 доброкачественных: 6 эндометриальных железисто-фиброзных полипов, 3 эндометриальных фиброзных полипа, эндометриальный железистый полип, 5 аденом гипофиза, папиллома влагалища. Также было выявлено 16 злокачественных опухолей прочих локализаций: 5 светлоклеточных аденокарцином почки, железистая аденокарцинома, переходноклеточная карцинома лоханки и злокачественная фиброзная гистиоцитома почки; лейомиосаркома и лимфосаркома брыжейки кишечника; подкожная злокачественная фиброзная гистиоцитома, подкожная фибросаркома; 2 злокачественные мезотелиомы, невринома брюшинного пространства, лимфоцитарный лейкоз; и 5 доброкачественных: 3 аденомы легких, ангиома брыжейки кишечника, липома брюшинного пространства.

Таким образом, введение левзеи не влияло существенно на радиационный канцерогенез.

### **3.10. Влияние настойки корня женьшеня обыкновенного на радиационный канцерогенез у самок крыс**

Влияние введения препарата женьшеня на выживаемость облученных крыс представлены на рисунке 3.25. Из графика можно видеть, что между группой,

получавшей препарат женьшеня, и облученным контролем, не было обнаружено достоверных различий. Анализ выживаемости по кривым Каплан–Мейера, показывает, что во всех группах, где применялось облучение, наблюдалось ускорение гибели животных, начиная с 211 суток и до конца опыта, по сравнению с интактным контролем. Достоверных различий по характеру кривых гибели облученных крыс между группами не было отмечено.

Во второй серии опытов первая опухоль (аденокарцинома молочной железы) была выявлена через 267 дней у крысы из 7-й группы облученного контроля. По сравнению с 7-й группой, в 8-й группе облученных животных, которым давали биоженьшень, были статистически значимо ( $p < 0,05$ ) снижены общая частота и множественность опухолей соответственно на 35 и 58.3%, частота и множественность всех злокачественных опухолей – на 59.6 и 62.5% (таблица 3.6). У животных 8-й группы также наиболее частой локализацией были опухоли молочной железы,

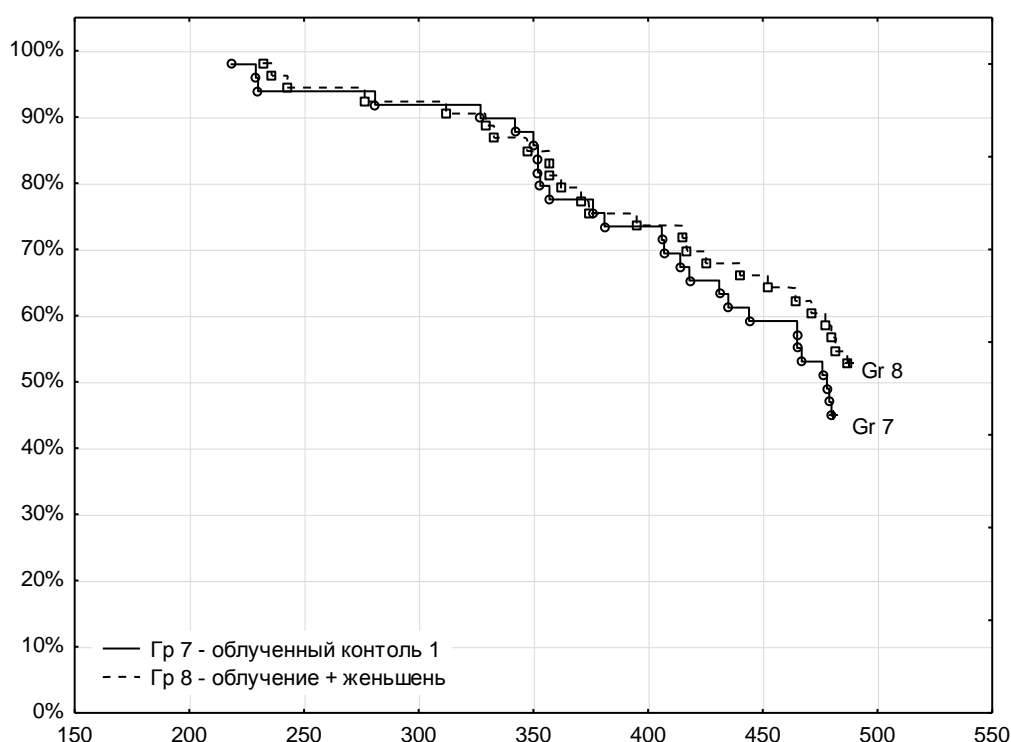


Рисунок 3.25. Влияние женьшеня на выживаемость облученных крыс.

По оси абсцисс – время (сут), по оси ординат – % выживших животных в соответствующий момент времени.

log-rank  $P > 0,05$  между группами

но по сравнению с 7-й группой облученного контроля их общая частота и множественность были ниже соответственно на 43.8 и 50%, а также отдельно частота и множественность злокачественных новообразований данной локализации – меньше на 72% и 71.1%, все отличия статистически значимы ( $p < 0,05$ ). По сравнению со 7-й группой в 8-й группе частота и множественность опухолей эндокринных и репродуктивных органов были статистически значимо ( $p < 0,05$ ) ниже соответственно на 69.7 и 82%, причем злокачественных новообразований данных органов не было выявлено вообще. По сравнению с 7-й группой у крыс 8-й группы частота и множественность опухолей прочих локализаций достоверно не отличались (таблица 3.6).

Таблица 3.6. – Влияние введения препарата женьшеня на радиационный канцерогенез у самок крыс

Параметры канцерогенеза	Группа		
	Гр.1 Интактный контроль	Гр.7 Облученный контроль 2	Гр.8 Облучение +женьшень
Эффективное число крыс	91	40	44
Опухоли всех локализаций			
Частота	20 (21,9%)	28 (70%) <sup>a</sup>	20 (45,5%) <sup>аб</sup>
из них злокачественные	7 (7,7%)	18 (45%) <sup>a</sup>	8 (18,2%) <sup>б</sup>
Множественность	20 (0,22±0,02)	70 (1,75 ± 0,27) <sup>a</sup>	32 (0,73 ± 0,15) <sup>аб</sup>
из них злокачественные	7 (0,08±0,03)	23 (0,58 ± 0,12) <sup>a</sup>	9 (0,20 ± 0,07) <sup>б</sup>
Опухоли молочной железы			
Частота	4 (4,4%)	21 (52,5%) <sup>a</sup>	13 (29,5%) <sup>аб</sup>
из них злокачественные	0	13 (32,5%) <sup>a</sup>	4 (9,1%) <sup>б</sup>
Множественность	4 (0,04±0,02)	36 (0,90 ± 0,16) <sup>a</sup>	20 (0,45 ± 0,13) <sup>аб</sup>
из них злокачественные	0	15 (0,38 ± 0,09) <sup>a</sup>	5 (0,11 ± 0,06) <sup>б</sup>
Опухоли эндокринных и репродуктивных органов			
Частота	7 (7,7%)	12 (30%)	4 (9,1%) <sup>б</sup>

из них злокачественные	1 (1,1%)	2 (5%)	0
Множественность	7 (0,08±0,02)	20 (0,50 ± 0,14)	4 (0,09 ± 0,04) <sup>б</sup>
из них злокачественные	1 (0,01±0,01)	2 (0,05 ± 0,03)	0
Опухоли прочих локализаций			
Частота	9 (9,9%)	10 (25%)	7 (15,9%)
из них злокачественные	6 (6,6%)	5 (12,5%)	4 (9,1%)
Множественность	9 (0,10±0,02)	14 (0,35 ± 0,10) <sup>а</sup>	8 (0,18 ± 0,07)
из них злокачественные	6 (0,07±0,03)	6 (0,15 ± 0,06)	4 (0,09 ± 0,04)

Примечания те же, что и к таблице 3.2.

У животных 8-й группы также наиболее частой локализацией были опухоли молочной железы, из них 5 – аденокарциномы, 15 – фиброаденомы. Среди опухолей эндокринных и репродуктивных органов выявлено 4 доброкачественных опухоли (эндометриальные железисто–фиброзные и фиброзные полипы) и не обнаружено ни одной злокачественной опухоли. Из прочих новообразований были зарегистрированы 4 злокачественные опухоли: мезенхимальная опухоль почки, светлоклеточная аденокарцинома почки, злокачественная фиброзная гистиоцитома брыжейки кишечника, аденокарцинома желудка. Остальные 4 опухоли классифицированы как доброкачественные: аденоматозный полип толстой кишки – 2, папилломатоз преджелудка – 2.

Таким образом, биоженшень эффективно предупреждал радиационный канцерогенез. Биоженшень существенно снижал частоту и множественность злокачественных и доброкачественных новообразований всех групп: молочной железы, эндокринных и репродуктивных органов, прочих локализаций, но наиболее значимо антиканцерогенное действие биоженшеня проявляется в отношении опухолей молочной железы, эндокринных и репродуктивных органов.

### 3.11. Влияние $\alpha$ -дифторметилорнитина, настойки корня элеутерококка колючего и настойки корня левзеи сафлоровидной на изменения индекса ДНК клеток крови облученных крыс

Измерение содержания лейкоцитов крови в группах крыс через 30 суток после  $\gamma$ -облучения представлены в таблице 3.7. Как можно видеть из приведенных данных, восстановление популяции лейкоцитов у контрольно облученных животных к этому сроку происходило до уровня, не отличавшегося от параметра, измеренного в группе интактных крыс. Эти результаты соответствуют кроветворному синдрому, индуцированному сублетальными дозами радиации. Введение облученным животным ДФМО не оказывало влияния на уровень концентрации лейкоцитов после радиационного воздействия, тогда как при введении элеутерококка или левзеи наблюдалось снижение величины измерявшегося гемоцитологического показателя по сравнению с контролем.

Таблица 3.7. – Содержание лейкоцитов крови ( $\times 10^9$  кл/л) в группах крыс через 30 суток после  $\gamma$ -облучения в дозе 4 Гр

Группа животных (n – число крыс)	Интактный контроль (n = 23)	Облученный контроль (n = 22)	Облучение + ДФМО (n = 25)	Облучение + элеутерококк (n = 20)	Облучение + левзея (n = 20)
Концентрация лейкоцитов (M $\pm$ m)	14,85 $\pm$ 1,08	12,73 $\pm$ 1,00	12,71 $\pm$ 0,77	9,77* $\pm$ 0,47	10,22* $\pm$ 0,6 0

Примечание: знаком \* помечены величины, достоверно отличающиеся от уровня показателя в группе облученного контроля.

Определение токсикогеномного показателя в лейкоцитах крови выявило возрастание индекса ДНК (ИД) лишь в группе контрольно облученных крыс по сравнению с показателем в группе интактного контроля (рисунок 3.26).

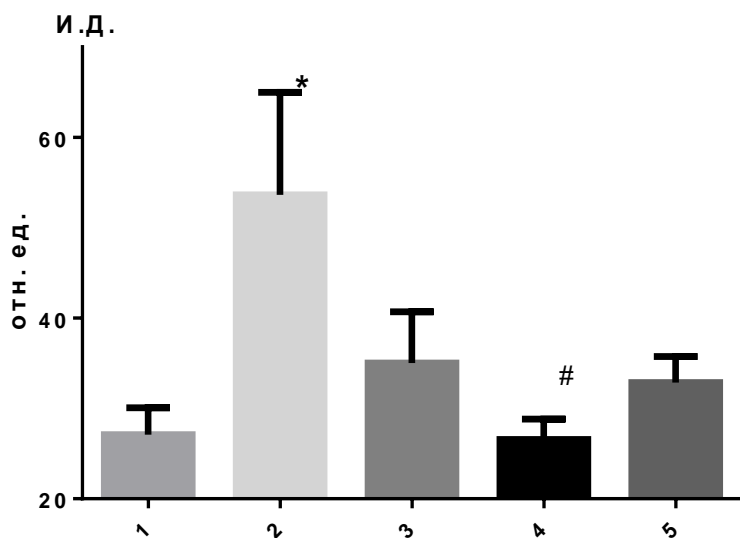


Рисунок 3.26. Влияние ДФМО и фитопрепаратов на индекс ДНК клеток крови облученных крыс.

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

Достоверное снижение показателя генотоксичности в сравнении с контрольно облученными животными (группа 2) в результате введения исследованных препаратов наблюдалось только в группе крыс, получавших экстракт элеутерококка (группа 4). В группах животных с ДФМО и экстрактом левзеи эти снижения были недостоверными.

Корреляционный анализ изменений выживаемости в группе 1 (интактного контроля) и опухоленосителей 2-й (облученного контроля) и подопытных групп 3 – 5 (с введением химиопрофилактических препаратов) в связи с изменениями токсикогеномного показателя в группах этих же крыс не выявил достоверных взаимосвязей между этими параметрами. Однако сопоставление изменений

токсикогеномного показателя с результатами гистологических исследований опухолей отдельных локализаций (табл 3.8) выявило достоверную положительную корреляцию вариаций величины ИД во всех обследованных группах крыс только с частотой и множественностью злокачественных новообразований эндокринных и репродуктивных органов (ЗНЭРО):

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

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

Таблица 3.8. – Изменения частоты и множественности злокачественных новообразований эндокринных и репродуктивных органов и индекса ДНК после облучения и введения химиопрофилактических препаратов

Параметры канцерогенеза	Группа				
	№1. Интактный контроль	№2. Облученный контроль	№5. Облучение + ДФМО	№4. Облучение + элеутерококк	№3. Облучение + левзея
	<b>Опухоли эндокринных и репродуктивных органов</b>				
Частота злокачественных новообразований	1,1%	5,8%	3,7%	2,3%	3,7%
Множественность злокачественных новообразований	0,01±0,01	0,06 ± 0,02	0,04±0,02	0,02 ± 0,02	0,04 ± 0,02
ИД	27,1±3,0	53,6±11,4	32,9±2,9	26,6±2,3	35,0±5,7

## ГЛАВА IV

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

#### 4.1. Влияние $\gamma$ -облучения самок крыс на частоту и множественность опухолей

В группе интактного контроля у необлученных животных в течение 16 мес (соответствующим этим же срокам у крыс подопытной группы, подвергшейся действию радиации) погибло 22% особей, в основном, от интеркуррентных неопухолевых заболеваний – большей частью пневмоний и абсцессов. Большинство выявленных новообразований молочной железы, эндокринных и репродуктивных органов в группе интактного контроля были доброкачественными (эндометриальные железисто–фиброзные и фиброзные полипы, аденомы гипофиза, аденомы щитовидной железы, ганглионевромы надпочечника, цистоаденомы яичника, папилломы влагалища), но у 4,4% наблюдались злокачественные опухоли.

В группе  $\gamma$ -облученных крыс по сравнению с интактным контролем относительное число неопухолевых заболеваний изменялось незначительно, но более чем в 6 раз увеличивалась доля животных, погибших от злокачественных опухолей (рак молочной железы, аденокарциномы и лейомиосаркомы матки, злокачественные гранулезоклеточные опухоли и цистоаденокарциномы яичника, плоскоклеточные карциномы и лейомиосаркомы влагалища). Кроме того, в группе облученного контроля были значительно повышены общая частота и множественность как доброкачественных, так и злокачественных опухолей, а также частота и множественность новообразований всех локализаций. Представленные в настоящей работе результаты согласуются с полученными ранее данными [3], где самки крыс подвергались рентгеновскому облучению в дозе 4 Гр.

Ранее было показано, что препараты  $\alpha$ -дифторметилорнитин (ДФМО) [8, 103], а также водные экстракты из элеутерококка и левзеи [10, 34] предупреждали



развитие новообразований различных локализаций в экспериментах с индукцией опухолей химическими канцерогенами, но не были исследованы в случае радиационного канцерогенеза. Вместе с тем, механизмы развития новообразований после действия радиации многогранны и имеют не только сходство, но и отличия от путей реализации канцерогенного потенциала химических соединений [77]. Химические канцерогены способны избирательно аккумулироваться и инициировать развитие опухоли не только в местах их аппликации, но и в отстоящих от этого места органах-мишенях в связи с особенностями введения препаратов и их метаболизма [30]. Следует заметить, что неспецифичные для опухоли изменения обмена веществ в той или иной степени происходят в процессе канцерогенеза и в других органах и тканях [18]. В отличие от химических соединений канцерогенный эффект лучевого фактора реализуется, в основном, в рамках поля облучения. Кроме того, значительная часть проведенных исследований была связана с изучением радиопротекторов, которые вводились до момента облучения, тогда как практический интерес представляет также выявление эффектов препарата, введенного после установления факта действия ионизирующей радиации, но до момента манифестации новообразования.

Вместе с тем, противоопухолевые химиопрофилактические средства в целом и, в частности, предназначенные для профилактики опухолей, вызванных излучением, должны отвечать следующим требованиям:

- не должны обладать токсичностью даже при длительном использовании;
- должны быть эффективными в качестве средств, препятствующих развитию канцерогенеза, поскольку в большинстве случаев эти методы лечения предназначены для использования после воздействия ионизирующего излучения, то есть в период постинициации;
- не должны иметь противопоказаний для людей с хроническими заболеваниями и, желательно, оказывать терапевтическое или профилактическое воздействие на различные патологические состояния;

- следует вводить перорально, что удобно для практического применения;
- должны быть доступны и относительно недороги.

#### **4.2. Влияние $\alpha$ -дифторметилорнитина на развитие радиационного канцерогенеза у крыс**

Активность препаратов в каждой серии рассчитывали относительно соответствующего облученного контроля. Синтетический препарат ДФМО (использованный в качестве стандарта) показал высокую активность по многим параметрам, однако эффективность этого соединения проявлялась избирательно. В отношении опухолей молочной железы ДФМО был активен, но не проявлял значимого ингибирующего действия в отношении опухолей эндокринных и репродуктивных органов.

Высокая степень ингибирования радиационного канцерогенеза при использовании ДФМО соответствует ранее показанной на различных моделях химического канцерогенеза [35, 8, 103, 61, 150]. Кроме того, следует учитывать успешные клинические испытания ДФМО в качестве противоопухолевого химиопрофилактического средства. Так, этот препарат эффективно подавлял суррогатные биомаркеры конечных точек канцерогенеза (например, рецидивы полипов толстой кишки) у пациентов с повышенным риском развития специфических эпителиальных опухолевых заболеваний, включая заболевания ободочной кишки [105, 95], пищевода [138], простаты [137]. Литературные данные свидетельствуют о том, что ДФМО является эффективным и достаточно универсальным антиканцерогеном, способным тормозить развитие опухолей различных органов, индуцированных химическими канцерогенами [8, 103]. Механизм антиканцерогенного действия ДФМО заключается в необратимом ингибировании активности орнитиндекарбоксилазы – ключевого фермента превращения орнитина в путресцин, что ингибирует синтез полиаминов и

клеточную пролиферацию; в свою очередь повышенный уровень полиаминов наблюдается при развитии предопухолевых и опухолевых изменений в различных тканях, онкогены *c-myc* и *ras* увеличивают активность орнитиндекарбоксилазы [73]. Клинические испытания ДФМО в качестве средства для химиопрофилактики рака толстой кишки, кожи и предстательной железы привели к положительным результатам [39, 55, 104, 137].

Нами впервые показано, что ДФМО по сравнению с облученным контролем приводит к статистически значимому торможению радиационного канцерогенеза, которое проявляется, во-первых, в снижении общей частоты и множественности всех опухолей, в том числе частоты и множественности злокачественных новообразований; во-вторых, в снижении вышеназванных показателей в отношении опухолей молочной железы и опухолей прочих локализаций, но не влиял на развитие опухолей эндокринных и репродуктивных органов. Так, по сравнению с крысами облученного контроля в группе с введением ДФМО снижалась общая частота и множественность опухолей всех локализаций на 26 и 29%, соответственно (для всех злокачественных новообразований – на 61 и 62%); частота и множественность опухолей молочной железы – на 30 и 24% (в том числе злокачественных новообразований – на 74 и 75%). Однако этот препарат не оказывал значительного влияния на развитие опухолей эндокринных и репродуктивных органов.

Вместе с тем, ДФМО может оказывать токсическое действие, проявляющееся диареей, болями в животе, тошнотой и рвотой, гематологическими расстройствами и, чаще всего, снижением слуха [103], поэтому более широкое использование этого препарата в качестве противоопухолевого химиопрофилактического средства пока не имеет перспектив.

### 4.3. Растительные препараты как средства профилактики канцерогенеза у $\gamma$ -облученных крыс

Антиканцерогенная эффективность женьшеня в наших экспериментах по многим параметрам превосходила показанную ранее в аналогичных экспериментах с фенформинном [3], тималином [4], эпиталамином [4], безафибратом [82], симвастином [81], куркумином [80], дегидроэпиандростероном [78] и низкокалорийной диетой [67]. Ранее Костылева и др. [25] в экспериментах на крысах показали, что женьшень, применяемый даже в течение относительно короткого срока одновременно с хроническим  $\gamma$ -облучением всего тела в течение 31 дня (мощность дозы 1,78 рад/ч, общая доза 9,73 Гр), а затем еще 30 дней после облучения, значительно снижал образование опухолей.

Этот эффект был зарегистрирован на 21-м месяце наблюдения. В данном случае антиканцерогенный эффект женьшеня, возможно, был связан с радиозащитным, а не химиопрофилактическим действием. Защитный эффект женьшеня также был показан *in vitro* – при добавлении в клеточную среду он предотвращал образование микроядрышек, индуцированных излучением в лимфоцитах человека [96,97]. Радиопротекторы обычно используются для профилактики острых радиационных травм. Одним из таких препаратов, одобренным в США для использования в клинической лучевой терапии, является амифостин [36]. Имеются экспериментальные данные о том, что амифостин, вводимый мышам перед облучением, способен предотвратить развитие некоторых поздних патологических эффектов излучения, включая развитие опухолей [147]. Однако следует помнить, что амифостин обладает значительной токсичностью [123]. Другая группа препаратов может использоваться после облучения для снижения риска развития рака. Такие лекарственные средства, применяемые после канцерогенного воздействия, называются противоопухолевыми химиопрофилактическими агентами [87]. Эти препараты обычно используются в течение длительного периода и, следовательно, не должны иметь никакой токсичности. В нашем исследовании препараты использовались только в

пострадиационный период как химиопрофилактические агенты, а не как радиопротекторы.

Важно, что женьшень не проявлял никакой токсичности даже после длительного использования, не обладал мутагенными и канцерогенными свойствами и может препятствовать развитию спонтанных опухолей [111, 45]. В Южной Корее было проведено несколько эпидемиологических исследований среди населения в регионах, где потребление женьшеня является традиционным. В исследованиях случай–контроль [160, 161] и проспективных когортных наблюдениях [159, 161] было показано, что люди, которые систематически потребляют женьшень, имеют существенно меньшую частоту развития рака. Другое плацебо–контролируемое исследование показало, что у мужчин с атрофическим гастритом, потребляющим экстракт женьшеня (1 г в неделю) в течение 3 лет, значительно снижается риск развития рака разных локализаций по сравнению с контрольной группой [162]. Ранее клинические испытания с некоторыми препаратами женьшеня, полученными в результате культивирования клеток, показали [42], что даже короткие курсы его перорального применения (2–6 месяцев) оказали очевидный терапевтический эффект при лечении пациентов с предраковыми поражениями пищевода (хронический эрозивный эзофагит) и эндометрия (аденоматозная гиперплазия). Предполагалось, что женьшень является одним из немногих универсальных и нетоксичных средств предотвращения развития опухолей разных локализаций, индуцированных не только химическими канцерогенами [42, 161], но и ионизирующим излучением. Основным выводом настоящих экспериментов с использованием модели радиационного канцерогенеза состоит в том, что женьшень является наиболее эффективным из изученных фитопрепаратов и способен ингибировать развитие опухолей многих локализаций. Кроме того, важно учитывать способность женьшеня проявлять другие терапевтические свойства: противовоспалительное действие, адаптогенный эффект – повышение устойчивости к различным вредным факторам и т. д. [85]. Женьшень обычно вводится перорально, что наиболее удобно на практике. Экспериментальные результаты по женьшеню, как наиболее эффективному

ингибитору радиационного канцерогенеза, позволяют рекомендовать его для дальнейшего изучения в качестве перспективного антиканцерогенного агента в клинике. Все вопросы, связанные с порядком доз и токсичностью, должны быть рассмотрены в рамках соответствующей программы доклинических испытаний.

У крыс, подвергавшихся  $\gamma$ -облучению в дозе 4 Гр, длительное применение биоженьшеня после воздействия лучевого фактора приводит к существенному торможению канцерогенеза, которое проявляется в снижении общей частоты и множественности опухолей, частоты и множественности новообразований основных локализаций (молочной железы, эндокринных и репродуктивных органов), частоты и множественности всех злокачественных опухолей и отдельно – аденокарцином молочной железы, а также в сужении спектра локализаций опухолей.

Полученные нами данные впервые свидетельствуют о том, что биоженьшень при длительном применении в период промации (после облучения) эффективно тормозит радиационный канцерогенез. В опытах на крысах, подвергавшихся однократному тотальному рентгеновскому облучению в дозе 5,5 Гр, двухнедельное введение с питьевой водой биоженьшеня до облучения или после облучения увеличивало выживаемость животных [24]. Женьшень является одним из наиболее сильных фитоадаптогенов, которые, согласно теории Н.В. Лазарева, вызывают в организме состояние неспецифически повышенной сопротивляемости, и благодаря этому, ингибируют канцерогенез [34]. Важно, что препараты женьшеня не имеют какой-либо существенной токсичности, а также мутагенных и канцерогенных свойств, а, наоборот, способны тормозить развитие спонтанных опухолей [45, 111].

Механизмы антиканцерогенного действия женьшеня и его активных компонентов – гинзенозидов – в отношении лучевого канцерогенеза многообразны, но основными считают антиоксидантный и иммуностимулирующий эффекты, а также способность вызывать апоптоз поврежденных клеток [25, 96]. Экстракты корня женьшеня и гинзенозиды стимулируют реакции Т-клеточного иммунитета и активность естественных клеток-киллеров, тормозят ангиогенез, улучшают межклеточное взаимодействие,

активируют гены супероксиддисмутазы и каталазы, тормозят перекисное окисление липидов, вызывают апоптоз путем активации генов p53 и p21WAF1, ингибируют фосфодиэстеразную активность, индуцируют клеточную дифференцировку [133, 158], что также вносит свой вклад в антиканцерогенное действие. Важно, что препараты женьшеня не имеют какой-либо существенной общей и специфической токсичности, в том числе мутагенных и канцерогенных свойств, а, наоборот, способны тормозить развитие спонтанных опухолей [45, 111]. Выявленная нами способность женьшеня предупреждать радиационный канцерогенез, а также полученные нами ранее результаты о торможении химически индуцированных опухолей с помощью женьшеня, также как и литературные данные, позволяют сделать заключение, что женьшень является одним из немногих универсальных и при этом безопасных средств, препятствующих развитию опухолей различных локализаций, индуцированных как химическими канцерогенами, так и ионизирующей радиацией.

Способность препаратов элеутерококка предупреждать возникновение опухолей менее изучена, чем двух вышеназванных препаратов, хотя имеющиеся в литературе сведения говорят о том, что элеутерококк, также как и женьшень, обладает неорганоспецифическим антиканцерогенным действием и имеет сходные механизмы действия. Элеутерококк стимулирует реакции макрофагов и выработку интерферона, повышает активность естественных клеток-киллеров; обладает антиоксидантными свойствами, нормализует гормональные и метаболические нарушения, усиливает процессы репарации ДНК [6, 34], что вносит свой вклад в антиканцерогенные механизмы действия. Как и женьшень, элеутерококк не имеет побочных и токсических эффектов [6, 34], и его длительный прием является безопасным, что говорит о перспективности применения элеутерококка для химиопрофилактики онкологических заболеваний. Тем не менее, по-видимому, специфическая антиканцерогенная активность элеутерококка более слабая по сравнению с женьшенем.

При введении экстрактов элеутерококка или левзеи процент гибели крыс от злокачественных новообразований превышал уровень этого показателя в группе

животных интактного контроля и не отличался от величины аналогичного параметра у контрольно облученных животных. Вместе с тем по сравнению с облученным контролем в группе с введением элеутерококка после  $\gamma$ -воздействия происходило достоверное снижение общей частоты и множественности опухолей на 22% и 26%, соответственно, а также к уменьшению частоты и множественности всех злокачественных новообразований – на 36% и 26%; при этом проявилась тенденция к снижению частоты и множественности опухолей молочной железы и общего числа опухолей эндокринных и репродуктивных органов.

Среди агентов, которые ослабили эффекты радиационно–индуцированного канцерогенеза, выявленных в настоящем исследовании, наиболее активными были растительные препараты с антиоксидантными свойствами, и они включают в себя лабазник. В этой связи важно отметить, что лабазник имеет широкую зону распространения и значительную базу природных ресурсов. Препараты лабазника являются относительно недорогими и могут использоваться независимо или в комбинации с различными другими лекарственными средствами.

Для выявления в тестируемых образцах биологически активных веществ было проведено изучение химического состава экстракта лабазника. Результаты показали высокую концентрацию флавоноидов и танинов; содержание флавоноидов в водном отваре составляло не менее 80% по сравнению с спиртовым экстрактом. Эти данные согласуются с данными других авторов, которые использовали различные виды экстракции из сырья лабазника [94, 60, 40, 26, 52, 86]. Содержание многих отдельных фенольных соединений в образцах, идентифицированных с помощью ВЭЖХ–анализа, было значительно выше в отваре лабазника, чем в спиртовом экстракте. Однако флавоноиды, танины и многие фенольные соединения обладают антиоксидантной активностью и могут проявлять различные биологические эффекты [112, 52, 86]. Использование отвара лабазника полностью приемлемо для оценки его возможного воздействия на радиационный канцерогенез. Результаты экспериментов на крысах, подвергнутых однократному тотальному облучению, с последующим пролонгированным введением отвара лабазника показали, что этот растительный препарат способен



ингибировать радиационно–индуцированный канцерогенез. Анतिकанцерогенная активность лабазника проявлялась по ряду параметров для всех опухолесодержащих крыс–опухоленосителей, и особенно для животных с опухолями молочной железы.

#### **4.4. Сравнительный анализ анतिकанцерогенной эффективности препаратов**

Сравнительные анतिकанцерогенные эффекты фитоадаптогенных лекарственных препаратов и ДФМО на показатели общей частоты и множественности опухолей, индуцированных у самок крыс ионизирующим излучением, представлены на рисунке 4.1.

Из пяти исследованных препаратов достоверно снижали показатели радиационного канцерогенеза только ДФМО, женьшень, элеутерококк и лабазник. Левзея не показала торможения радиационного канцерогенеза. Наибольшую эффективность в снижении общих показателей канцерогенеза показал женьшень, который уменьшал общую частоту и множественность опухолей соответственно на 13 и 31.9% больше, чем элеутерококк, и на 25,7% и 36.7% больше, чем лабазник. Женьшень снижал также общую частоту и множественность злокачественных новообразований соответственно на 22.7 и 39.5% более эффективно, чем элеутерококк, и на 26,2 и 35,5% более эффективно, чем лабазник. Элеутерококк по сравнению с лабазником на 12,7% сильнее снижал частоту всех опухолей (рисунок 4.1). Женьшень также наиболее эффективно подавлял развитие опухолей молочной железы.

По сравнению с элеутерококком и лабазником, женьшень более эффективно снижал частоту и множественность всех опухолей молочной железы соответственно на 26 и 34.1%, 12.2 и 12.2%, злокачественных опухолей молочной железы – на 55 и 86.1%, 18,8% и 16,1%. Лабазник по сравнению элеутерококком более эффективно снижал частоту и множественность опухолей молочной железы и отдельно злокачественных новообразований данной локализации соответственно на 13.8 и 22.0%, 36.2 и 70.0% (рисунок 4.1).

В отношении новообразований эндокринных и репродуктивных органов также наибольшую антиканцерогенную активность проявил женьшень, который уменьшал частоту и множественность данных опухолей соответственно на 54.2 и 60.8% больше, чем элеутерококк, и на 71.9 и 69.9% больше, чем лабазник. Следует отметить, что в отличие от других препаратов, женьшень полностью подавлял развитие злокачественных новообразований эндокринных и репродуктивных органов (на 100%). Элеутерококк уменьшал частоту всех опухолей эндокринных и репродуктивных органов на 17.7% и множественность отдельно злокачественных новообразований данных органов на 16.7 более эффективно, чем левзея (рисунок 4.1).

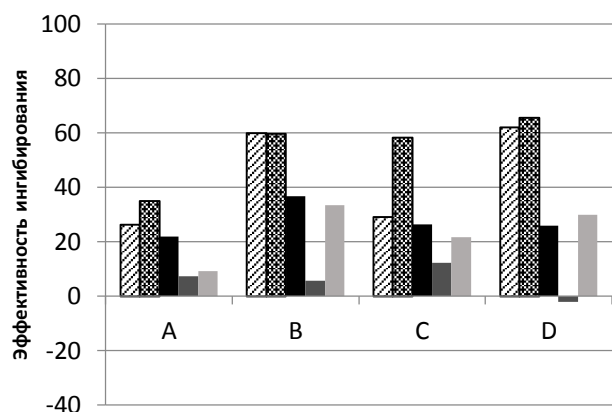
Развитие опухолей прочих локализаций наиболее эффективно ингибировал элеутерококк. По сравнению с женьшенем и лабазником, элеутерококк более эффективно снижал частоту и множественность всех опухолей прочих локализаций соответственно на 24.1 и 9%, 73.5 и 69.7%, а частоту и множественность отдельно злокачественных опухолей – на 28.6 и 14.2%, 48.1% и 54.2%.

Женьшень снижал частоту и множественность всех опухолей прочих локализаций соответственно на 49,5 и 60.7% более эффективно, чем лабазник, а частоту и множественность злокачественных новообразований прочих локализаций – на 19.5 и 40.0% соответственно (рисунок 4.1).

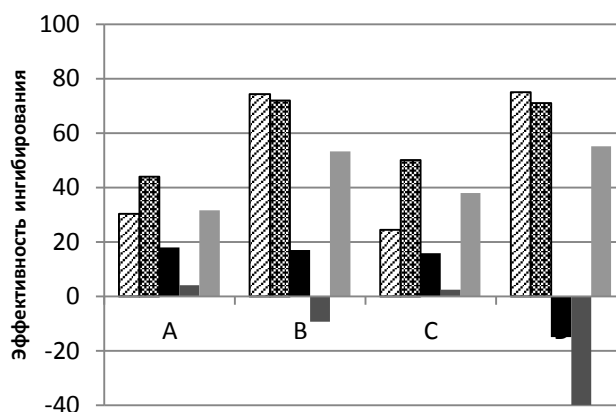
Лабазник показал сравнимую с биоженьшенем активность в отношении новообразований молочной железы, а в остальных случаях была близка по эффективности к элеутерококку, кроме группы прочих локализаций.

Сопоставляя ДФМО и элеутерококк можно полагать, что оба препарата перспективны для дальнейшего клинического изучения в качестве средств предупреждения отдаленных онкологических последствий у лиц, подвергавшихся воздействию ионизирующей радиации. Однако ДФМО обладает побочным и токсическим действием: диарея, боли в животе, тошнота и рвота, гематологические расстройства, потеря слуха [103].

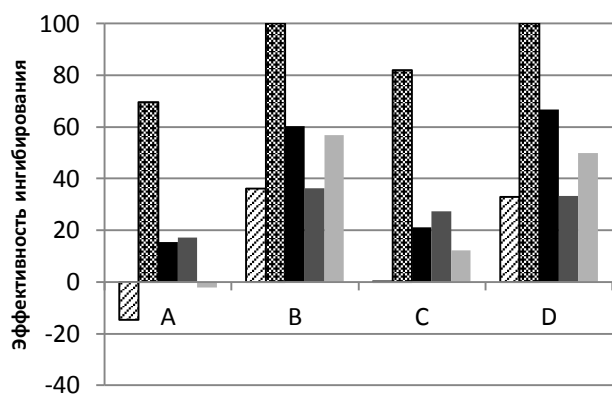
☐ДФМО ☑Женьшень ■Элеутерококк ■Левзея □Лабазник



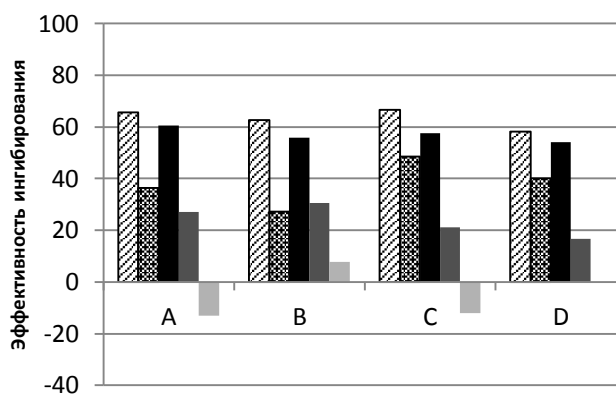
**Опухоли всех локализаций**



**Опухоли молочной железы**



**Опухоли эндокринных и репродуктивных органов**



**Опухоли прочих локализаций**

Рисунок 4.1. Сравнительная эффективность ингибирования радиационного канцерогенеза у самок крыс при помощи ДФМО и фитопрепаратов; (А – частота всех опухолей, В – частота злокачественных опухолей, С – множественность всех опухолей; D – множественность злокачественных опухолей). Положительные значения указывают степень подавления канцерогенеза по сравнению с уровнем в группе облученного контроля (принят за 0), отрицательные – степень стимулирования.

Назначение ДФМО как противоопухолевого препарата оправдано, а использование его в качестве средства для химиопрофилактики рака требует тщательной оценки возможного вреда от токсического действия и ожидаемой пользы от снижения онкологического риска. Несмотря на то, что антиканцерогенный эффект элеутерококка слабее, чем у ДФМО, длительное применение элеутерококка для

химиопрофилактики отдаленных онкологических лучевых последствий предпочтительнее, так как элеутерококк, в отличие от ДФМО, не имеет побочных и токсических эффектов [6, 34], и его длительный прием является безопасным.

К настоящему времени в экспериментах на животных показано, что радиационный канцерогенез можно ингибировать с использованием ряда различных средств [155, 113]. Например, у облученных крыс частота опухолей снижалась за счет: синтетического ингибитора орнитиндекарбоксилазы,  $\alpha$ -дифторметилорнитина [9]; антидиабетического препарата класса бигуанидов, фенформина [3]; гиполипидемических препаратов, безафибрата [82] и симвастатина [81]; гормональной терапии дегидроэпиандростероном [78]; полипептидными факторами, выделенными из тимуса и эпифиза животных [4] или низкокалорийной диеты [67]. Однако длительное использование этих средств не всегда хорошо переносится и может оказывать вредное воздействие на организм.

Некоторые классические радиопротекторы, такие как амифостин и ему подобные, применяемые до облучения для предотвращения острых радиационных повреждений, также изучались как ингибиторы радиационного канцерогенеза. К сожалению, они являются токсичными препаратами [123], и это ограничивает их практическое использование.

Другая большая группа агентов имеет естественное происхождение и включает широкий спектр витаминов, минералов и растительных веществ, которые известны как противоопухолевые химиопрофилактические агенты. Эта группа защитных препаратов подходит для использования с целью снижения риска развития рака в популяциях, подвергающихся воздействию радиации в любых дозах.

Кеннеди и др. [88,89] изучали влияние пищевых антиоксидантных добавок, в частности, ингибитора протеазы Bowman–Birk (BBI), полученного из сои, и препарата, который содержал смесь антиоксидантов (L–Селенометионин, N–ацетилцистеин, аскорбиновую кислоту, кофермент Q10,  $\alpha$ -липоевая кислота и сукцинат витамина E). Животных содержали на диетах с добавлением антиоксидантов или BBI в течение 2 лет после облучения. Оба диетических

препарата ингибировали канцерогенез (злокачественные лимфомы и опухоли гардеровой железы) у мышей СВА/J, подвергнутых воздействию космического излучения – протонов и ионов железа. Авторы считают, что диетические добавки могут быть полезны для профилактики злокачественных новообразований, возникающих в результате воздействия космического излучения [88,89] и в перспективе могут иметь значения для будущего исследования космоса.

Ранее несколько лекарственных препаратов были выявлены как ингибиторы радиационного канцерогенеза. Одним из наиболее эффективных ингибиторов является куркумин, полученный из корневищ *Curcuma longa*. Он изучался на крысах, которых подвергали однократно воздействию  $\gamma$ -излучения в дозе 2,6 Гр в поздний период беременности а затем после отлучения потомства от матери, ему имплантировали гранулы диэтилстильбэстрола на период 1 года (промоция канцерогенеза). Одновременное с этим добавление к пище 1% куркумина значительно уменьшало заболеваемость опухолями молочной железы [80]. В подобных экспериментах защитное действие этого препарата на заболеваемость опухолями молочной железы и гипофиза было выявлено даже при сокращении срока кормления крыс куркумином – только за 3 дня до и/или через 3 дня после облучения [79]. Авторы предполагают, что радиозащитный эффект куркумина реализуется через антиоксидантную активность, поскольку этот препарат ингибировал экскрецию почками 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозина, известного маркера окислительного стресса радиационно-индуцированного рака молочной железы [79]. У мышей с лимфомой тимуса, индуцированной облучением, ингибирующее действие куркумина было более выраженным, чем у других антиоксидантов, используемых в период после облучения – аскорбиновой кислоты или эвгенола [48].

Интересные результаты были получены с экстрактом *Ginkgo biloba*, также известным как Танакан, который, как было показано, обладает антикластогенными эффектами *in vitro* и *in vivo*. Кластогенные факторы являются биомаркерами окислительного стресса, связанными с увеличением производства супероксидных свободных радикалов, высокие уровни которых коррелируют с поздними

радиационными эффектами, включая канцерогенез [59]. В сыворотке крови небольшой группы ликвидаторов, облученных после Чернобыльской ядерной аварии, между 1986 и 1988 годами были обнаружены кластогенные факторы [57]. В проспективном исследовании тридцать работников получали Танакан 40 мг три раза в день в течение 2 месяцев. В результате наблюдалось статистически значимое снижение кластогенных факторов в образцах сыворотки крови в течение по меньшей мере 7 месяцев, и только у одной трети рабочих кластогенные факторы были обнаружены повторно через 1 год [57]. Авторы приписывают антикластогенные свойства флавоноидным и терпеновым соединениям в экстракте *Ginko biloba*.

Эмерит и др. [56] провели аналогичное проспективное исследование, в котором двадцать ликвидаторов после Чернобыльской ядерной аварии (1986–1989 гг.) получили «антиоксидантный биофактор», состоящий из растительных фенолов, витаминов и олигоэлементов в течение 3 месяцев. В результате статистически значимое снижение уровня кластогенных факторов было зарегистрировано в образцах сыворотки по сравнению с уровнем до лечения по меньшей мере в течении 12 месяцев [56]. Эти данные заставляют нас согласиться с тем, что показатель уровня кластогенных факторов как индикатор окислительного стресса может быть использован оценки ингибирующей активности профилактических средств в эпидемиологических исследованиях [113].

Сравнение полученных в настоящей работе результатов с эффектами препаратов, ранее изучавшихся в модели радиационного канцерогенеза позволило лучше оценить лабазник как потенциальное средство для химиопрофилактики рака. В подобных экспериментах (однократное  $\gamma$ -облучение самцов крыс с последующим введением лекарственных средств) был установлен выраженный ингибирующий эффект на радиационный канцерогенез двух других растительных препаратов – элеутерококка и женьшеня [9], из которых женьшень был более активным, лабазник был близок к женьшеню по многим параметрам антиканцерогенного эффекта. Кроме того, лабазник, как и женьшень, оказался самым эффективным ингибитором опухолей молочной железы: в то время как

лабазник снижал частоту опухолей в 1,5 раза и множественность в 1,6 раза, женьшень уменьшал их в 1,8 раза и в 2,0 раза соответственно.

Сравнение активности ДФМО и четырех растительных препаратов на способность подавлять радиационный канцерогенез в эксперименте показало, что наибольшую ингибирующую активность проявили ДФМО и женьшень, а также лабазник (особенно на развитие опухолей молочной железы); эффект элеутерококка был несколько меньше. Женьшень, элеутерококк и лабазник являются фитоадаптогенами, и обладают другими эффектами (антиоксидантным, противовоспалительным, антимуtagenным и пр.), за счет которых может реализоваться их универсальное антиканцерогенное действие [34, 70]. С нашей точки зрения, фитопрепараты такие как женьшень наиболее целесообразно использовать в качестве радиомодуляторов в группах опухолевого риска для его снижения. Эти препараты не токсичны, их можно применять внутрь в течение длительного времени и они обладают широким спектром других терапевтических эффектов.

Развитие опухолей молочной железы, как наиболее частой у самок крыс после облучения, тормозили ДФМО и в меньшей степени – элеутерококк. Вместе с тем элеутерококк подавлял рост других злокачественных опухолей эндокринных и репродуктивных органов, индуцированных ионизирующим излучением.

Имеются существенные различия ингибирующих эффектов на радиационный канцерогенез между препаратами, относящимися к группе классических фитоадаптогенов. Считается, что у элеутерококка основными действующими веществами по химической структуре являются тритерпеновые гликозиды – элеутерозиды, а действующими веществами левзеи считаются стероидные вещества – фитоэкдизоны [6, 34, 162]. Известно, что с введением элеутерококка связана также стимуляция реакции макрофагов, повышение активности естественных клеток–киллеров, увеличение выработки интерферона; он обладает антиоксидантными свойствами, нормализует гормональные и метаболические нарушения, и наряду с этим усиливает процессы репарации ДНК, приводящие к снижению повреждающих геном эффектов радиации [6, 34]. В

общем, все это сопутствует активации антиканцерогенных механизмов действия элеутерококка.

Следовательно, только одного повышения неспецифической сопротивляемости недостаточно для эффективного предупреждения радиационного канцерогенеза, тогда как элеутерококк, обеспечивающий одновременно также снижение генотоксичности, оказывается в этом плане более эффективным профилактическим препаратом.

#### **4.5. Определение генотоксических показателей в крови крыс**

Одной из задач исследования явилось измерение генотоксических показателей в крови крыс (в качестве ранних маркеров действия ионизирующего излучения) и определение модификации этих показателей химиопротективными препаратами, которые потенциально способны предотвращать канцерогенез, индуцированный радиацией. Это может позволить осуществить предикцию биологической активности тестируемых препаратов и ускорить процессы скрининга. Для сравнительного исследования в качестве ингибиторов радиационного канцерогенеза были выбраны синтетический фармпрепарат – ДФМО и два натуральных лекарственных препарата из группы фитоадаптогенов – элеутерококк и левзея. Гематологические и токсикогеномные показатели измеряли в ранние сроки и на 30 сутки после облучения индивидуально прижизненно путем анализа крови крыс, как описано ранее [22].

В отдельной серии экспериментов было выявлено, что введение ДФМО не влияло на восстановление количества лейкоцитов к 30-м суткам после облучения крыс, в то время как при введении элеутерококка или левзеи процесс восстановления популяции лейкоцитов тормозился (таблица 3.7).

Токсикогеномные эффекты в лейкоцитах крыс оценивали с помощью определения изменений величины индекса ДНК (ИД) – содержания ДНК нуклеотидов в расчёте на лейкоцит. Значение ИД лейкоцитов периферической крови



интактных крыс (выраженные в отн. ед./кл) принимали соответствующим диплоидному (2с) содержанию ДНК белых клеток крови.

Определение показателя лучевых поражений ДНК в крови выявило значимое возрастание величины ИД в группе контрольно облученных крыс по сравнению с уровнем показателя в группе интактного контроля. Достоверное снижение ИД в сравнении с контрольно облученными животными в результате введения исследованных препаратов наблюдалось только в группе крыс, получавших экстракт элеутерококка после действия радиации. В группах животных, которым вводили ДФМО или экстракт левзеи эти снижения были недостоверными.

Сопоставление изменений показателя генотоксичности с результатами гистологических исследований опухолей отдельных локализаций выявило значимую положительную корреляцию вариаций величины ИД в обследованных группах крыс с частотой и множественностью злокачественных новообразований эндокринных и репродуктивных органов [19]. Полученное уравнение регрессии может быть свидетельством того, что эндокринная система является эффективным местом профилактического действия элеутерококка и представляет собой, вероятно, одну из первичных мишеней генотоксического действия ионизирующей радиации в организме.

Современные исследования показали, что подсчёт числа циркулирующих опухолевых клеток, как биомаркеров развития опухолей выполним, например, путём взятия крови из вены и выявления этих клеток, в частности, на основании их размеров с помощью микрофльтрации на мембранах, определения плотности клеток, маркерных белков или экспрессии генов [117, 49, 143]. Имеющиеся данные свидетельствуют о весьма вероятной взаимосвязи между числом циркулирующих опухолевых клеток в крови, эпителиально–мезенхимальной трансформацией и прогнозом больных РМЖ [38, 157]. Однако, следует отметить, что циркулирующие опухолевые клетки встречаются редко (одна на  $10^{11}$  –  $10^{12}$  циркулирующих клеток крови) и только одного подсчёта количества клеток в общем ещё недостаточно. Для более адекватной персональной предикции успешного предотвращения

канцерогенеза необходимо учитывать и качественные, в том числе биохимические параметры средств профилактики, а также их побочные эффекты.

Вместе с тем, введение элеутерококка приводило к снижению числа генотоксических повреждений в лейкоцитах крови после действия  $\gamma$ -радиации. Полученные в настоящей работе данные свидетельствуют о том, что определенные в пробах крови (используемой в качестве образцов жидкостной биопсии) изменения генотоксического показателя на 30 сутки после облучения крыс в ряде случаев позволяют осуществить предварительную оценку активности исследуемых препаратов и таким образом ускорить весь процесс их скрининга. Таким образом определение увеличения ploидности в клетках крови в перспективе может служить ранним предиктивным маркером индукции опухолей в организме, а развитие методики определения величины показателя ИД в крови позволит получить адекватный критерий предварительной оценки эффективности средств химиопрофилактики при радиационном воздействии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, тотальное  $\gamma$ -облучение самок крыс Вистар в дозе 4 Гр приводит к значительному повышению частоты и множественности как доброкачественных, так и злокачественных новообразований всех локализаций. Из пяти исследованных препаратов значимо снижали показатели радиационного канцерогенеза только ДФМО, женьшень, элеутерококк и лабазник. Левзея не показала торможения радиационного канцерогенеза. Дальнейшее развитие методики определения величины показателя ИД в крови позволит получить адекватный критерий предварительной оценки эффективности средств химиопрофилактики при радиационном воздействии. Корень женьшеня обыкновенного, корень элеутерококка колючего, цветки лабазника вязолистного могут быть предложены специалистам в области профилактической медицины для клинического изучения с целью профилактики отдаленных онкологических последствий у групп населения, подвергшихся воздействию ионизирующего излучения.

## ВЫВОДЫ

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

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

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

4. Настойка корня элеутерококка колючего умеренно тормозит радиационный канцерогенез: по сравнению с облученным контролем статистически значимо снижает общую частоту и множественность новообразований в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ),

частоту всех злокачественных опухолей – в 1,6 раза ( $p < 0,05$ ); частоту и множественность новообразований других локализаций – в 2,5 и 2,4 раза ( $p < 0,05$ ).

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

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

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

8. Через 30 суток после облучения крыс по сравнению с интактным контролем значимо ( $p < 0,05$ ) повышается индекс ДНК – содержание ДНК в расчете на число лейкоцитов крови. Препараты  $\alpha$ -дифторметилорнитина, элеутерококка колючего и левзеи сафлоровидной снижают индекс ДНК до уровня, не отличающегося достоверно от показателя в группе интактного контроля. Изменения индекса ДНК коррелируют ( $R = 0,908$ ,  $p < 0,05$ ) с вариациями показателей частоты и множественности впоследствии развившихся злокачественных новообразований в репродуктивных и эндокринных органах.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

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

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

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

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

ИД – Индекс ДНК

ДФМО –  $\alpha$ -Дифторметилорнитин

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

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

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

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

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Александров, В.А. Принципы и перспективы химиопрофилактики рака / В. А. Александров, В. Г. Беспалов // Вопросы онкологии – 1991. – Т. 37, №4. – С.387–393.
2. Анисимов, В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. В 2 т., 2-е изд. / В. Н. Анисимов – СПб: Наука, 2008. – Т. 1.– 481 с.; Т. 2.– 434 с.
3. Анисимов, В.Н. Ингибирование радиационного канцерогенеза у самок крыс с помощью фенформина / В. Н. Анисимов, Н. М. Белоус, Е. А. Прокудина // Экспериментальная онкология – 1982. – Т. 4, №6. – С.26–29.
4. Анисимов, В.Н. Влияние полипептидных факторов тимуса и эпифиза на радиационный канцерогенез / В. Н. Анисимов, Г. И. Мирецкий, В. Г. Морозов, В. Х. Хавинсон // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины – 1982. – Т. 94, №7. – С.80–82.
5. Анисимов, В.Н. Влияние синтетического иммуномодулятора тимогена на радиационный канцерогенез у крыс / В. Н. Анисимов, Г. И. Мирецкий, В. Г. Морозов, В. Х. Хавинсон // Вопросы онкологии – 1992. – Т. 38, №4. – С.451–458.
6. Барнаулов, О.Д. Женьшень и другие адаптогены / О. Д. Барнаулов. – СПб: ЭЛБИ, 2001. – 138с.
7. Беспалов, В.Г. Химиопрофилактика рака: практические возможности и перспективы / В. Г. Беспалов // Медлайн экспресс – 2005. – №2. – С.26–30.
8. Беспалов, В.Г. Влияние  $\alpha$ -дифторметилорнитина на развитие индуцированных N-метил-N-бензилнитрозамином опухолей пищевода, нервной системы и почек у крыс / В. Г. Беспалов, В. А. Александров, А. С. Петров, Д. Н. Троян // Экспериментальная онкология – 1992. – Т. 14, №2. – С.26–30.
9. Беспалов, В.Г. Химиопрофилактика отдаленных онкологических последствий на модели радиационного канцерогенеза / В. Г. Беспалов, В. А. Александров, А. Л. Семенов, Е. Г. Кованько, С. Д. Иванов // Сибирский онкологический журнал – 2013. – №5 (59). – С.27–33.



10. Беспалов, В.Г. Тормозящий эффект фитоадаптогенных препаратов биоженъшеня, элеутерококка колючего и левзеи сафлоровидной на развитие опухолей нервной системы у крыс, индуцированных N-нитрозоэтилмочевинной / В. Г. Беспалов, В. А. Александров, К. В. Яременко, В.В. Давыдов, Н.Л. Лазарева, А.Ю. Лимаренко, Л.И. Слепян, А.С. Петров, Д.Н. Троян // Вопросы онкологии – 1992. – Т. 38, №9. – С.1073–1080.
11. Васин, М.В. Классификация противолучевых средств как отражение современного состояния и перспективы развития радиационной фармакологии / М. В. Васин // Радиационная биология. Радиоэкология – 2013. – Т. 53, №5. – С.459–467.
12. Виноградова, И.А. Влияние светового режима на развитие спонтанных опухолей у самок крыс / И. А. Виноградова, А. В. Букалев, М. А. Забежинский, А. В. Семенченко, В. Н. Анисимов // Вопросы онкологии – 2007. – Т. 53, №5. – С.554–561.
13. Виноградова, И.А. Влияние светового режима и мелатонина на гомеостаз, продолжительность жизни и развитие спонтанных опухолей у самцов крыс / И. А. Виноградова, А. В. Букалев, М. А. Забежинский, А. В. Семенченко, В. Н. Анисимов // Вопросы онкологии – 2008. – Т. 54, №1. – С.70–77.
14. ВОЗ. 1986–2016: ЧЕРНОБЫЛЬ 30 лет спустя. Последствия Чернобыльской аварии: новые оценки медицинских последствий / ВОЗ – Женева, 2006.
15. ВОЗ. 2006. Медицинские последствия Чернобыльской аварии: обзор. Информационный бюллетень № 303 / ВОЗ – Женева, 2016.
16. ГОСТ Р 53434-2009. Принципы надлежащей лабораторной практики. – Введ. 2009–12–02. – М.: Стандартинформ – 2010. – 25с.
17. Долл, Р. Причины рака. Пер. с англ / Р. Долл, Р. Пито – Киев: Наукова думка, 1984. – 254с.
18. Иванов, С.Д. Предикивные биохимические маркеры ответа на лучевую и химиолучевую терапию онкологических больных / С. Д. Иванов // Биомедицинская химия – 2012. – Т. 58, №6. – С.635–650.
19. Иванов, С.Д. Токсикогеномные эффекты в лейкоцитах крови крыс и химиопрофилактика радиационного канцерогенеза / С. Д. Иванов, В. Г. Беспалов, А.

- Л. Семёнов, Е. Г. Кованько, В. А. Александров // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины – 2015. – Т. 160, №11. – С.661–665.
20. Иванов, С.Д. Предсказательные маркеры эффективности лучевой и химиолучевой терапии в онкологии / С. Д. Иванов, Л. И. Корытова – СПб: ООО «Издательство Фолиант», 2013. – 112с.
21. Иванов, С.Д. Структурные изменения ДНК нуклеотидов крови и развитие отдаленных последствий у облученных крыс / С. Д. Иванов, И. В. Ремизова, Е. Г. Кованько // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины – 1990. – Т. 109, №3. – С.296–299.
22. Иванов, С.Д. Экспресс–метод оценки генотоксических эффектов низких доз радиационно–ртутных воздействий. / С. Д. Иванов, М. П. Собуцкий, А. С. Монахов, Е. . Кованько // Токсикологический вестник – 2008., №1. – С.21–25.
23. Кашеев, В.В. Оценка и сравнение радиационных рисков медицинского и профессионального облучений / В. В. Кашеев, А. Н. Меняйло, Е. А. Пряхин, С. Ю. Чекин, В. К. Иванов // Радиация и риск – 2015. – Т. 24, №3. – С.5–15.
24. Костылева, В.В. Геропротекторные свойства биоантиоксидантного комплекса женьшеня в радиационной модели преждевременного старения / В. В. Костылева, М. С. Борц, Е. Г. Николаева, А. В. Белякова, Г. А. Рыжак // Успехи геронтологии – 2009. – Т. 22, №3. – С.459–462.
25. Костылева, В.В. Противорадиационное действие биоантиоксидантного комплекса экстракта женьшеня в модели радиационного старения на фоне образования радиогенных опухолей / В. В. Костылева, М. С. Борц, Е. Г. Николаева, Г. А. Рыжак // Успехи геронтологии – 2010. – Т. 23, №1. – С.86–89.
26. Краснов, Е.А. Химический состав растений рода *Filipendula* (обзор) / Е. А. Краснов, Е. Ю. Авдеева // Химия растительного сырья – 2012. – №4. – С.5–12.
27. Мазурик, В.К. Молекулярная эпидемиология отдаленных радиационных эффектов / В. К. Мазурик, В. Ф. Михайлов // Радиационная биология. Радиоэкология – 2004. – Т. 44, №3. – С.296–311.
28. Москалев, Ю.И. Отдаленные последствия воздействия ионизирующих излучений / Ю. И. Москалев – М.: Медицина, 1991.– 464с.

29. НКДАР. Международная оценка последствий чернобыльской аварии: Чернобыльский Форум ООН (2003–2005) и НКДАР ООН (2005–2008). – 15с.
30. Сибирцев, В.С. Особенности индивидуальных реакций дезактивации бенз(а)пирена у крыс в зависимости от режима поступления канцерогена в организм. / В. С. Сибирцев, М. Л. Тындык, С. Д. Иванов // Вопросы онкологии – 2000. – Т. 46, №5. – С.594–599.
31. Собуцкий, М.П. Влияние возраста и пола животных на генотоксические и биохимические показатели в крови после радиационно–ртутных воздействий в малых дозах / М. П. Собуцкий, Е. Г. Кованько, С. И. Лютинский, С. Д. Иванов // Успехи геронтологии – 2007. – Т. 20, №2. – С.91–96.
32. Тирмарш, М. Риск возникновения рака легкого при облучении радоном и продуктами его распада. Заявление по радону / М. Тирмарш, Д. Лурье, Д. Д. Харрисон, Ф. Пак, Е. Бланшардон, Д. В. Марш / под ред. К. Х. Клемента. – М.: Изд-во «ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России», 2013. – 92с.
33. Чекин, С.Ю. Радиационные риски как средство управления эффективностью мер радиологической защиты: уроки Чернобыля для Фукусимы / С. Ю. Чекин, В.К. Иванов, М.А. Максютлов // Тр. XII Всерос. Совещания по проблемам управления ВСПУ–2014. – М.: ИПУ РАН, 2013. – С.6546–6552.
34. Яременко, К.В.Оптимальное состояние организма и адаптогены / К. В. Яременко – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2008.– 131с.
35. Alexandrov, V.A. Study of postnatal effects of chemopreventive agents on offspring of ethylnitrosourea-induced transplacental carcinogenesis in rats. I. Influence of retinol acetate,  $\alpha$ -tocopherol acetate, thiamine chloride, sodium selenite, and  $\alpha$ -difluoromethylornithine / V. A. Alexandrov, V. G. Beshpalov, C. W. Boone, G. J. Kelloff, W. F. Malone // Cancer letters – 1991. – Vol. 60, №2. – P.177–184.
36. Andreassen, C.N. Chemical radioprotection: a critical review of amifostine as a cytoprotector in radiotherapy / C. N. Andreassen, C. Grau, J. C. Lindegaard // Seminars in Radiation Oncology – 2003. – Vol. 13, №1. – P.62–72.

37. Anisimov, V.N. Spontaneous tumors in outbred LIO rats / V. N. Anisimov, G. B. Pliss, M. G. Ioganssen, I. G. Popovich, K. P. Romanov, A. S. Monakhov, T. K. Averyanova // *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* – 1989. – Vol. 8, №4. – P.254–262.
38. Baccelli, I. Identification of a population of blood circulating tumor cells from breast cancer patients that initiates metastasis in a xenograft assay / I. Baccelli, A. Schneeweiss, S. Riethdorf, A. Stenzinger, A. Schillert, V. Vogel, C. Klein, M. Saini, T. Bäuerle, M. Wallwiener // *Nature biotechnology* – 2013. – Vol. 31, №6. – P.539–544.
39. Bailey, H.H. A randomized, double-blind, placebo-controlled phase 3 skin cancer prevention study of  $\alpha$ -difluoromethylornithine in subjects with previous history of skin cancer / H. H. Bailey, K. Kim, A. K. Verma, K. Sielaff, P. O. Larson, S. Snow, T. Lenaghan, J. L. Viner, J. Douglas, N. E. Dreckschmidt // *Cancer prevention research* – 2010. – Vol. 3, №1. – P.35–47.
40. Barros, L. Characterization of phenolic compounds in wild medicinal flowers from Portugal by HPLC–DAD–ESI/MS and evaluation of antifungal properties / L. Barros, C. T. Alves, M. Dueñas, S. Silva, R. Oliveira, A. M. Carvalho, M. Henriques, C. Santos-Buelga, I. C. Ferreira // *Industrial Crops and Products* – 2013. – Vol. 44 – P.104–110.
41. Benova, D.K. Life span and tumor incidence in rats receiving postradiation treatment with ATP-AET-mexamine mixture / D. K. Benova, G. D. Kiradzhiev, M. N. Troitskaya, V. N. Anisimov // *Radiation research* – 1985. – Vol. 101, №1. – P.207–211.
42. Bespalov, V.G. Chemoprevention of mammary, cervix and nervous system carcinogenesis in animals using cultured *Panax ginseng* drugs and preliminary clinical trials in patients with precancerous lesions of the esophagus and endometrium. / V. G. Bespalov, V. A. Alexandrov, A. Y. Limarenko, B. O. Voytenkov, V. B. Okulov, M. K. Kabulov, A. P. Peresunko, L. I. Slepyan, V. V. Davydov // *Journal of Korean medical science* – 2001. – Vol. 16, Suppl. – P.42-53.
43. Bogdanova, T.I. Histopathological features of papillary thyroid carcinomas detected during four screening examinations of a Ukrainian-American cohort / T. I. Bogdanova, L. Y. Zurnadzhy, Y. E. Nikiforov, R. J. Leeman-Neill, M. D. Tronko, S. Chanock, K. Mabuchi, I. A. Likhtarov, L. M. Kovgan, V. Drozdovitch // *British journal of cancer* – 2015. – Vol. 113, №11. – P.1556–1564.

44. Boice Jr, J.D. Childhood and adult cancer after intrauterine exposure to ionizing radiation / J. D. Boice Jr, R. W. Miller // *Teratology* – 1999. – Vol. 59, №4. – P.227–233.
45. Chan, P.C. Two-year toxicity and carcinogenicity studies of *Panax ginseng* in Fischer 344 rats and B6C3F1 mice / P.C. Chan, J. C. Peckham, D. E. Malarkey, G. E. Kissling, G. S. Travlos, P. P. Fu // *The American journal of Chinese medicine* – 2011. – Vol. 39, №4. – P.779–788.
46. Chen, J.X. Risk of malignancy associated with head and neck CT in children: a systematic review / J. X. Chen, B. Kachniarz, S. Gilani, J. J. Shin // *Otolaryngology–Head and Neck Surgery* – 2014. – Vol. 151, №4. – P.554–566.
47. Chuthapisith, S. Breast cancer chemoresistance: emerging importance of cancer stem cells / S. Chuthapisith, J. Eremin, M. El-Sheemey, O. Eremin // *Surgical oncology* – 2010. – Vol. 19, №1. – P.27–32.
48. Dange, P.S. Radiation-induced incidence of thymic lymphoma in mice and its prevention by antioxidants / P. S. Dange, H. D. Sarma, B. N. Pandey, K. P. Mishra // *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology* – 2007. – Vol. 26, №4. – P. 273–279.
49. Danila, D.C. Circulating tumors cells as biomarkers: progress toward biomarker qualification / D. C. Danila, K. Pantel, M. Fleisher, H. I. Scher // *Cancer journal (Sudbury, Mass.)* – 2011. – Vol. 17, №6. – P.438–450.
50. Darby, S. Residential radon and lung cancer—detailed results of a collaborative analysis of individual data on 7148 persons with lung cancer and 14 208 persons without lung cancer from 13 epidemiologic studies in Europe / S. Darby, D. Hill, H. Deo, A. Auvinen, J. M. Barros-Dios, H. Baysson, F. Bochicchio, R. Falk, S. Farchi, A. Figueiras // *Scandinavian journal of work, environment & health* – 2006. – Vol. 32, Suppl 1. – P.1–83.
51. Davis, J.S. Current state and future challenges of chemoprevention / J. S. Davis, X. Wu // *Discovery medicine* – 2012. – Vol. 13, №72. – P.385–390.
52. Denev, P. Antioxidant, antimicrobial and neutrophil-modulating activities of herb extracts. / P. Denev, M. Kratchanova, M. Ciz, A. Lojek, O. Vasicek, D. Blazheva, P. Nedelcheva, L. Vojtek, P. Hyrsal // *Acta Biochimica Polonica* – 2014. – Vol. 61, №2. – 359–367.

53. Doll, R. Risk of childhood cancer from fetal irradiation. / R. Doll, R. Wakeford // *The British journal of radiology* – 1997. – Vol. 70, №830. – P.130–139.
54. Duarte, C.W. Expression signature of IFN/STAT1 signaling genes predicts poor survival outcome in glioblastoma multiforme in a subtype-specific manner / C. W. Duarte, C. D. Willey, D. Zhi, X. Cui, J. J. Harris, L. K. Vaughan, T. Mehta, R. O. McCubrey, N. N. Khodarev, R. R. Weichselbaum // *PloS one* – 2012. – Vol. 7, №1. – e29653.
55. Einspahr, J.G. Modulation of biologic endpoints by topical difluoromethylornithine (DFMO), in subjects at high-risk for nonmelanoma skin cancer / J. G. Einspahr, M. A. Nelson, K. Saboda, J. Warneke, G. T. Bowden, D. S. Alberts // *Clinical Cancer Research* – 2002. – Vol. 8, №1. – P.149–155.
56. Emerit, I. Oxidative stress-related clastogenic factors in plasma from Chernobyl liquidators: protective effects of antioxidant plant phenols, vitamins and oligoelements / I. Emerit, N. Oganessian, R. Arutyunian, A. Pogossian, T. Sarkisian, L. Cernjavski, A. Levy, J. Feingold // *Mutation Research*– 1997. – Vol. 377, №2. – P.239–246.
57. Emerit, I. Clastogenic factors in the plasma of Chernobyl accident recovery workers: anticlastogenic effect of Ginkgo biloba extract / I. Emerit, N. Oganessian, T. Sarkisian, R. Arutyunyan, A. Pogossian, K. Asrian, A. Levy, L. Cernjavski // *Radiation research* – 1995. – Vol. 144, №2. – P.198–205.
58. Eschrich, S.A. Validation of a radiosensitivity molecular signature in breast cancer / S. A. Eschrich, W. J. Fulp, Y. Pawitan, J. A. Foekens, M. Smid, J. W. Martens, M. Echevarria, V. Kamath, J.-H. Lee, E. E. Harris // *Clinical Cancer Research* – 2012. – Vol. 18, №18. – P.5134–5143.
59. Faguet, G.B. Radiation-induced clastogenic plasma factors / G. B. Faguet, S. M. Reichard, D. A. Welter // *Cancer genetics and cytogenetics* – 1984. – Vol. 12, №1. – P.73–83.
60. Fecka, I. Qualitative and quantitative determination of hydrolysable tannins and other polyphenols in herbal products from meadowsweet and dog rose / I. Fecka // *Phytochemical Analysis* – 2009. – Vol. 20, №3. – P.177–190.
61. Fong, L.Y.  $\alpha$ -Difluoromethylornithine inhibits N-nitrosomethylbenzylamine-induced esophageal carcinogenesis in zinc-deficient rats: effects on esophageal cell proliferation

- and apoptosis / L. Y. Fong, A. E. Pegg, P. N. Magee // *Cancer research* – 1998. – Vol. 58, №23. – P.5380–5388.
62. Fukushima, S. Inhibition by ginseng of colon carcinogenesis in rats. / S. Fukushima, H. Wanibuchi, W. Li // *Journal of Korean medical science* – 2001. – Vol. 16, Suppl. – P.75-80.
63. Furukawa, K. Radiation and smoking effects on lung cancer incidence among atomic bomb survivors / K. Furukawa, D. L. Preston, S. Lönn, S. Funamoto, S. Yonehara, T. Matsuo, H. Egawa, S. Tokuoka, K. Ozasa, F. Kasagi // *Radiation research* – 2010. – Vol. 174, №1. – P.72–82.
64. Garcia-Murillas, I. Mutation tracking in circulating tumor DNA predicts relapse in early breast cancer / I. Garcia-Murillas, G. Schiavon, B. Weigelt, C. Ng, S. Hrebien, R. J. Cutts, M. Cheang, P. Osin, A. Nerurkar, I. Kozarewa // *Science translational medicine* – 2015. – Vol. 7, №302. – 302ra133.
65. Gilbert, E.S. Ionising radiation and cancer risks: what have we learned from epidemiology? / E. S. Gilbert // *International journal of radiation biology* – 2009. – Vol. 85, №6. – P.467–482.
66. González, A.B. de Projected cancer risks from computed tomographic scans performed in the United States in 2007 / A. B. de González, M. Mahesh, K.-P. Kim, M. Bhargavan, R. Lewis, F. Mettler, C. Land // *Archives of internal medicine* – 2009. – Vol. 169, №22. – P.2071–2077.
67. Gross, L. Prevention of spontaneous and radiation-induced tumors in rats by reduction of food intake / L. Gross, Y. Dreyfuss // *Proceedings of the National Academy of Sciences* – 1990. – Vol. 87, №17. – P.6795–6797.
68. Hall, E.J. Radiation-induced second cancers: the impact of 3D-CRT and IMRT / E. J. Hall, C.S. Wu // *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics* – 2003. – Vol. 56, №1. – P.83–88.
69. Hall, J. Ionizing radiation biomarkers in epidemiological studies – an update / J. Hall, P. A. Jeggo, C. West, M. Gomolka, R. Quintens, C. Badie, O. Laurent, A. Aerts, N. Anastasov, O. Azimzadeh // *Mutation Research* – 2017. – Vol. 771 – P.59–84.

70. Helms, S. Cancer prevention and therapeutics: *Panax ginseng*. / S. Helms // *Alternative Medicine Review* – 2004. – Vol. 9, №3. – P. 259–274.
71. Henderson, T.O. Systematic review: surveillance for breast cancer in women treated with chest radiation for childhood, adolescent, or young adult cancer / T. O. Henderson, A. Amsterdam, S. Bhatia, M. M. Hudson, A. T. Meadows, J. P. Neglia, L. R. Diller, L. S. Constine, R. A. Smith, M. C. Mahoney // *Annals of internal medicine* – 2010. – Vol. 152, №7. – P.444–455.
72. Higgins, M.J. Detection of tumor PIK3CA status in metastatic breast cancer using peripheral blood / M. J. Higgins, D. Jelovac, E. Barnathan, B. Blair, S. A. Slater, P. Powers, J. Zorzi, S. C. Jeter, G. Oliver, J. H. Fetting // *Clinical cancer research* – 2012. – Vol. 18 – P.3462–3469.
73. Huang, Y. Molecular mechanisms of polyamine analogs in cancer cells / Y. Huang, A. Pledgie, R. A. Casero Jr, N. E. Davidson // *Anti-cancer drugs* – 2005. – Vol. 16, №3. – P.229–241.
74. Huang, L. *Acanthopanax senticosus*: review of botany, chemistry and pharmacology / L. Huang, H. Zhao, B. Huang, C. Zheng, W. Peng, L. Qin // *Die Pharmazie* – 2011. – Vol. 66., №2. – P. 83-97.
75. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Ionizing Radiation, Part 1: X– and Gamma ( $\gamma$ )–Radiation, and Neutrons. – Vol. 75. / Lyon, 2000. – 402p.
76. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Ionizing Radiation, Part 2: Some Internally Deposited Radionuclides. – Vol. 78. / Lyon, 2001. – 596p.
77. Imaoka, T. Radiation-induced mammary carcinogenesis in rodent models: What's different from chemical carcinogenesis? / T. Imaoka, M. Nishimura, D. Iizuka, K. Daino, T. Takabatake, M. Okamoto, S. Kakinuma, Y. Shimada // *Journal of radiation research* – 2009. – Vol. 50, №4. – P.281–293.
78. Inano, H. Chemoprevention by dietary dehydroepiandrosterone against promotion/progression phase of radiation-induced mammary tumorigenesis in rats / H. Inano, H. Ishii-Ohba, K. Suzuki, H. Yamanouchi, M. Onoda, K. Wakabayashi // *The*



- Journal of steroid biochemistry and molecular biology – 1995. – Vol. 54, №1–2. – P.47–53.
79. Inano, H. Radioprotective action of curcumin extracted from *Curcuma longa* LINN: inhibitory effect on formation of urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, tumorigenesis, but not mortality, induced by  $\gamma$ -ray irradiation / H. Inano, M. Onoda // *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics* – 2002. – Vol. 53, №3. – P.735–743.
80. Inano, H. Chemoprevention by curcumin during the promotion stage of tumorigenesis of mammary gland in rats irradiated with  $\gamma$ -rays / H. Inano, M. Onoda, N. Inafuku, M. Kubota, Y. Kamada, T. Osawa, H. Kobayashi, K. Wakabayashi // *Carcinogenesis* – 1999. – Vol. 20, №6. – P.1011–1018.
81. Inano, H. Anti-carcinogenic activity of simvastatin during the promotion phase of radiation-induced mammary tumorigenesis of rats. / H. Inano, K. Suzuki, M. Onoda, K. Wakabayashi // *Carcinogenesis* – 1997. – Vol. 18, №9. – P.1723–1727.
82. Inano, H. Chemoprevention of radiation-induced mammary tumors in rats by bezafibrate administered together with diethylstilbestrol as a promoter / H. Inano, K. Suzuki, K. Wakabayashi // *Carcinogenesis* – 1996. – Vol. 17, №12. – P.2641–2646.
83. Ivanov, S.D. Blood DNA radiosensitivity may be predictive for efficacy of experimental glioma irradiation: an animal study / S. D. Ivanov, A. L. Semenov, E. G. Kovan'ko, V. A. Yamshanov // *Acta Neurochirurgica* – 2013. – Vol. 116, Suppl. – P.151–154.
84. Ivanov, V.K. Lessons from Chernobyl and prognosis for Fukushima: radiological consequences / V. K. Ivanov // *Journal of Radiological Protection* – 2012. – Vol. 32, №1. – P.55-58.
85. Jia, L. Current evaluation of the millennium phytomedicine-ginseng (II): Collected chemical entities, modern pharmacology, and clinical applications emanated from traditional Chinese medicine / L. Jia, Y. Zhao, X.-J. Liang // *Current medicinal chemistry* – 2009. – Vol. 16, №22. – P.2924–2942.
86. Katanić, J. Bioactivity, stability and phenolic characterization of *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. / J. Katanić, T. Boroja, N. Stanković, V. Mihailović, M. Mladenović, S. Kreft, M. M. Vrvić // *Food & function* – 2015. – Vol. 6, №4. – P.1164–1175.

87. Kelloff G.J. Perspectives on cancer chemoprevention research and drug development / G.J. Kelloff // *Advances in Cancer Research* – 1999. – Vol. 78. – P.199–334.
88. Kennedy, A.R. Effects of dietary antioxidant supplementation on the development of malignant lymphoma and other neoplastic lesions in mice exposed to proton or iron-ion radiation / A. R. Kennedy, J. G. Davis, W. Carlton, J. H. Ware // *Radiation research* – 2008. – Vol. 169, №6. – P.615–625.
89. Kennedy, A.R. Suppression of the later stages of radiation-induced carcinogenesis by antioxidant dietary formulations / A. R. Kennedy, J. H. Ware, W. Carlton, J. G. Davis // *Radiation research* – 2011. – Vol. 176, №1. – P.62–70.
90. Kim, J.P. Co-carcinogenic effects of several Korean foods on gastric cancer induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in rats / J. P. Kim, J.G. Park, M.D. Lee, M.D. Han, S.T. Park, B.H. Lee, S.E. Jung // *The Japanese journal of surgery* – 1985. – Vol. 15, №6. – P.427–437.
91. Kim, R.-J. High aldehyde dehydrogenase activity enhances stem cell features in breast cancer cells by activating hypoxia-inducible factor-2 $\alpha$  / R.J. Kim, J.R. Park, K.J. Roh, A.R. Choi, S.R. Kim, P.H. Kim, J. H. Yu, J. W. Lee, S.-H. Ahn, G. Gong // *Cancer letters* – 2013. – Vol. 333, №1. – P.18–31.
92. Kokoska, L. Chemistry and pharmacology of *Rhaponticum carthamoides*: a review / L. Kokoska, D.Janovska // *Phytochemistry*. – 2009. – Vol. 70., №7. – P. 842-855.
93. Kumar, S. Second malignant neoplasms following radiotherapy / S. Kumar // *International journal of environmental research and public health* – 2012. – Vol. 9, №12. – P.4744–4759.
94. Lamaison, J.L. Content of principle flavonoids from the aerial parts of *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. subsp. *ulmaria* and subsp. *denudata* (J. &C. Presl) Hayek / J. L. Lamaison, C. Petitjean-Freytet, A. Carnat // *Pharmaceutica acta Helvetiae* – 1992. – Vol. 68, №8. – P.218–222.
95. Laukaitis, C.M. DFMO: targeted risk reduction therapy for colorectal neoplasia / C. M. Laukaitis, E. W. Gerner // *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* – 2011. – Vol. 25, №4–5. – P.495–506.

96. Lee, T.K. Radioprotective potential of ginseng / T.K. Lee, R. M. Johnke, R. R. Allison, K. F. O'brien, L. J. Dobbs Jr // *Mutagenesis* – 2005. – Vol. 20, №4. – P.237–243.
97. Lee, T.K. Radioprotective effect of American ginseng on human lymphocytes at 90 minutes postirradiation: a study of 40 cases / T.K. Lee, K. F. O'Brien, W. Wang, R. M. Johnke, C. Sheng, S. M. Benhabib, T. Wang, R. R. Allison // *The Journal of Alternative and Complementary Medicine* – 2010. – Vol. 16, №5. – P.561–567.
98. Li, W. High accordance in prognosis prediction of colorectal cancer across independent datasets by multi-gene module expression profiles / W. Li, R. Wang, Z. Yan, L. Bai, Z. Sun // *PloS one* – 2012. – Vol. 7, №3. – e33653.
99. Linet, M.S. Cancer risks associated with external radiation from diagnostic imaging procedures / M. S. Linet, T. L. Slovis, D. L. Miller, R. Kleinerman, C. Lee, P. Rajaraman, A. Berrington de Gonzalez // *CA: a cancer journal for clinicians* – 2012. – Vol. 62, №2. – P.75–100.
100. Lubin, J.H. Radon and lung cancer risk: a joint analysis of 11 underground miner studies / J. H. Lubin, J. D. Boice Jr, C. Edling. – Bethesda, MD: U.S. Department of Health and Human Services, 1994 – 136p.
101. Mäbert, K. Cancer biomarker discovery: current status and future perspectives / K. Mäbert, M. Cojoc, C. Peitzsch, I. Kurth, S. Souchelnytskyi, A. Dubrovskaya // *International journal of radiation biology* – 2014. – Vol. 90, №8. – P.659–677.
102. Mettler, F. A. Effective doses in radiology and diagnostic nuclear medicine: a catalog / F. A. Mettler, W. Huda, T. T., M. Mahesh // *Radiology* – 2008 – Vol. 248 – P.254–263.
103. Meyskens, F.L. Development of difluoromethylornithine (DFMO) as a chemoprevention agent / F. L. Meyskens, E. W. Gerner // *Clinical Cancer Research* – 1999. – Vol. 5, №5. – P.945–951.
104. Meyskens, F.L. Difluoromethylornithine plus sulindac for the prevention of sporadic colorectal adenomas: a randomized placebo-controlled, double-blind trial / F. L. Meyskens, C. E. McLaren, D. Pelot, S. Fujikawa-Brooks, P. M. Carpenter, E. Hawk, G. Kelloff, M. J. Lawson, J. Kidao, J. McCracken // *Cancer Prevention Research* – 2008. – Vol. 1 – P.32–38.

105. Meyskens Jr, F.L. Development of difluoromethylornithine as a chemoprevention agent for the management of colon cancer / F. L. Meyskens Jr, E. W. Gerner // *Journal of Cellular Biochemistry* – 1995. – Vol. 59, №S22. – P.126–131.
106. Milas, L. Inhibition of radiation carcinogenesis in mice by S-2-(3-aminopropylamino)-ethylphosphorothioic acid / L. Milas, N. Hunter, L. C. Stephens, L. J. Peters // *Cancer Research* – 1984. – Vol. 44, №12 Part 1. – P.5567–5569.
107. Monakhov, A.S. Dynamics of chromosomal damages in peripheral-blood lymphocytes during carcinogenesis induced by nitrosomethylurea in female rats / A.S. Monakhov, T. Yakovleva, V. N. Anisimov // *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research* – 1992. – Vol. 11., №2. – P.71-81.
108. Moysich, K.B. Chernobyl-related ionising radiation exposure and cancer risk: an epidemiological review / K. B. Moysich, R. J. Menezes, A. M. Michalek // *The Lancet Oncology* – 2002. – Vol. 3, №5. – P.269–279.
109. Narayan, A. Ultrasensitive measurement of hotspot mutations in tumor DNA in blood using error-suppressed multiplexed deep sequencing / A. Narayan, N. J. Carriero, S. N. Gettinger, J. Kluytenaar, K. R. Kozak, T. I. Yock, N. E. Muscato, P. Ugarelli, R. H. Decker, A. A. Patel // *Cancer research* – 2012. – Vol. 72 – P.3492–3498.
110. Nguyen, F. Risk of a second malignant neoplasm after cancer in childhood treated with radiotherapy: correlation with the integral dose restricted to the irradiated fields / F. Nguyen, C. Rubino, S. Guerin, I. Diallo, A. Samand, M. Hawkins, O. Oberlin, D. Lefkopoulos, F. De Vathaire // *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics* – 2008. – Vol. 70, №3. – P.908–915.
111. Nishino, H. Cancer chemoprevention by ginseng in mouse liver and other organs. / H. Nishino, H. Tokuda, T. Ii, M. Takemura, M. Kuchide, M. Kanazawa, X. Y. Mou, P. Bu, J. Takayasu, M. Onozuka // *Journal of Korean medical science* – 2001. – Vol. 16, Suppl. – P.66-69.
112. Oktyabrsky, O. Assessment of anti-oxidant activity of plant extracts using microbial test systems / O. Oktyabrsky, G. Vysochina, N. Muzyka, Z. Samoilova, T. Kukushkina, G. Smirnova // *Journal of applied microbiology* – 2009. – Vol. 106, №4. – P.1175–1183.

113. Oliai, C. Radioprotectants to reduce the risk of radiation-induced carcinogenesis / C. Oliai, L.-X. Yang // *International journal of radiation biology* – 2014. – Vol. 90, №3. – P.203–213.
114. Ootsuyama, A. Effect of an Inhibitor of Tumor Promotion,  $\alpha$ -Difluoromethylornithine, on Tumor Induction by Repeated Beta Irradiation in Mice / A. Ootsuyama, H. Tanooka // *Japanese journal of cancer research* – 1993. – Vol. 84, №1. – P.34–36.
115. Ozasa, K. Risk of cancer and non-cancer diseases in the atomic bomb survivors / K. Ozasa, Y. Shimizu, R. Sakata, H. Sugiyama, E. J. Grant, M. Soda, F. Kasagi, A. Suyama // *Radiation protection dosimetry* – 2011. – Vol. 146, №1–3. – P.272–275.
116. Ozasa, K. Studies of the mortality of atomic bomb survivors, Report 14, 1950–2003: an overview of cancer and noncancer diseases / K. Ozasa, Y. Shimizu, A. Suyama, F. Kasagi, M. Soda, E. J. Grant, R. Sakata, H. Sugiyama, K. Kodama // *Radiation research* – 2011. – Vol. 177, №3. – P.229–243.
117. Pantel, K. Detection, clinical relevance and specific biological properties of disseminating tumour cells / K. Pantel, R. H. Brakenhoff, B. Brandt // *Nature Reviews Cancer* – 2008. – Vol. 8, №5. – P.329–340.
118. Paunesku, D. Incidence of tissue toxicities in gamma ray and fission neutron-exposed mice treated with Amifostine / D. Paunesku, T. Paunesku, A. Wahl, Y. Kataoka, J. Murley, D. J. Grdina, G. E. Woloschak // *International journal of radiation biology* – 2008. – Vol. 84, №8. – P.623–634.
119. Pernot, E. Ionizing radiation biomarkers for potential use in epidemiological studies / E. Pernot, J. Hall, S. Baatout, M. A. Benotmane, E. Blanchardon, S. Bouffler, H. El Saghire, M. Gomolka, A. Guertler, M. Harms-Ringdahl // *Mutation Research* – 2012. – Vol. 751, №2. – P.258–286.
120. Preston, D.L. Solid cancer incidence in atomic bomb survivors: 1958–1998 / D. L. Preston, E. Ron, S. Tokuoka, S. Funamoto, N. Nishi, M. Soda, K. Mabuchi, K. Kodama // *Radiation research* – 2007. – Vol. 168, №1. – P.1–64.
121. Priyadarsini, R.V. Cancer chemoprevention by dietary phytochemicals: promises and pitfalls. / R.V. Priyadarsini, S. Nagini // *Current pharmaceutical biotechnology* – 2012. – Vol. 13, №1. – P.125–136.

122. Puskin, J.S. Smoking as a confounder in ecologic correlations of cancer mortality rates with average county radon levels / J. S. Puskin // *Health physics* – 2003. – Vol. 84, №4. – P.526–532.
123. Rades, D. Serious adverse effects of amifostine during radiotherapy in head and neck cancer patients / D. Rades, F. Fehlaue, A. Bajrovic, B. Mahlmann, E. Richter, W. Alberti // *Radiotherapy and Oncology* – 2004. – Vol. 70, №3. – P.261–264.
124. Richardson, A.L. BEAMing up personalized medicine: mutation detection in blood / A. L. Richardson, J. D. Iglehart // *Clinical Cancer Research* – 2012. – Vol. 18 – P.3209–3211.
125. Richardson, D. Ionizing radiation and leukemia mortality among Japanese atomic bomb survivors, 1950–2000 / D. Richardson, H. Sugiyama, N. Nishi, R. Sakata, Y. Shimizu, E. J. Grant, M. Soda, W.-L. Hsu, A. Suyama, K. Kodama // *Radiation research* – 2009. – Vol. 172, №3. – P.368–382.
126. Ron, E. Cancer risks from medical radiation / E. Ron // *Health physics* – 2003. – Vol. 85, №1. – P.47–59.
127. Ron, E. Ionizing radiation and cancer risk: evidence from epidemiology / E. Ron // *Radiation research* – 1998. – Vol. 150, №5 Suppl. – P.30-41.
128. Ronckers, C.M. Radiation and breast cancer: a review of current evidence / C. M. Ronckers, C. A. Erdmann, C. E. Land // *Breast Cancer Research* – 2004. – Vol. 7, №1. – P.21–32.
129. Rosell, R. EGFR mutations in circulating tumour DNA / R. Rosell, M. A. Molina, M. J. Serrano // *The Lancet Oncology* – 2012. – Vol. 13, №10. – P.971–973.
130. Salari, K. Personalized medicine: hope or hype? / K. Salari, H. Watkins, E. A. Ashley // *European heart journal* – 2012. – Vol. 33, №13. – P.1564–1570.
131. Schneck, H. Analysing the mutational status of PIK3CA in circulating tumor cells from metastatic breast cancer patients / H. Schneck, C. Blassl, F. Meier-Stiegen, R. P. Neves, W. Janni, T. Fehm, H. Neubauer // *Molecular oncology* – 2013. – Vol. 7, №5. – P.976–986.
132. Shah, K.H. Radiation exposure among patients with the highest CT scan utilization in the emergency department / K. H. Shah, B. H. Slovis, D. Runde, B. Godbout, D. H. Newman, J. Lee // *Emergency radiology* – 2013. – Vol. 20, №6. – P.485–491.

133. Shibata, S. Chemistry and cancer preventing activities of ginseng saponins and some related triterpenoid compounds. / S. Shibata // *Journal of Korean medical science* – 2001. – Vol. 16, Suppl. – P.28–37.
134. Shilnikova, N.S. Cancer mortality risk among workers at the Mayak nuclear complex / N. S. Shilnikova, D. L. Preston, E. Ron, E. S. Gilbert, E. K. Vassilenko, S. A. Romanov, I. S. Kuznetsova, M. E. Sokolnikov, P. V. Okatenko, V. V. Kreslov // *Radiation research* – 2003. – Vol. 159, №6. – P.787–798.
135. Shimizu, Y. Risk of cancer among atomic bomb survivors / Y. Shimizu, H. Kato, W. J. Schull // *Journal of radiation research* – 1991. – Vol. 32, Suppl 2. – P.54–63.
136. Shu, L. Phytochemicals: cancer chemoprevention and suppression of tumor onset and metastasis / L. Shu, K.L. Cheung, T.O. Khor, C. Chen, A.N. Kong // *Cancer and Metastasis Reviews* – 2010. – Vol. 29., №3. – P. 483-502.
137. Simoneau, A.R. The effect of difluoromethylornithine on decreasing prostate size and polyamines in men: results of a year-long phase IIb randomized placebo-controlled chemoprevention trial / A. R. Simoneau, E. W. Gerner, R. Nagle, A. Ziogas, S. Fujikawa-Brooks, H. Yerushalmi, T. E. Ahlering, R. Lieberman, C. E. McLaren, H. Anton-Culver // *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers* – 2008. – Vol. 17, №2. – P.292–299.
138. Sinicrope, F.A. Evaluation of difluoromethylornithine for the chemoprevention of Barrett's esophagus and mucosal dysplasia / F. A. Sinicrope, R. Broaddus, N. Joshi, E. Gerner, E. Half, I. Kirsch, J. Lewin, B. Morlan, W. K. Hong // *Cancer prevention research* – 2011. – Vol. 4, №6. – P.829–839.
139. Sottoriva, A. A Big Bang model of human colorectal tumor growth / A. Sottoriva, H. Kang, Z. Ma, T. A. Graham, M. P. Salomon, J. Zhao, P. Marjoram, K. Siegmund, M. F. Press, D. Shibata // *Nature genetics* – 2015. – Vol. 47, №3. – P.209–216.
140. Su, Z.Y. A perspective on dietary phytochemicals and cancer chemoprevention: oxidative stress, nrf2, and epigenomics / Z.Y. Su, L. Shu, T.O. Khor, J.H. Lee, F. Fuentes, A.N. Kong, // *Natural Products in Cancer Prevention and Therapy* – Springer, Berlin, Heidelberg, 2012. – P. 133-162.
141. Suit, H. Secondary carcinogenesis in patients treated with radiation: a review of data on radiation-induced cancers in human, non-human primate, canine and rodent subjects / H.

- Suit, S. Goldberg, A. Niemierko, M. Ancukiewicz, E. Hall, M. Goitein, W. Wong, H. Paganetti // *Radiation research* – 2007. – Vol. 167, №1. – P.12–42.
142. Thakur, V.S. Plant phytochemicals as epigenetic modulators: role in cancer chemoprevention/ V.S.Thakur, G. Deb, M.A. Babcook, S. Gupta // *The AAPS Journal* – 2014. – Vol. 16., №1. – P. 151-163.
143. Tinhofer, I. Cancer stem cell characteristics of circulating tumor cells / I. Tinhofer, M. Saki, F. Niehr, U. Keilholz, V. Budach // *International journal of radiation biology* – 2014. – Vol. 90, №8. – P.622–627.
144. Tomášek, L. Patterns of lung cancer mortality among uranium miners in West Bohemia with varying rates of exposure to radon and its progeny / L. Tomášek, S. C. Darby, T. Fearn, A. J. Swerdlow, V. Plaček, E. Kunz // *Radiation research* – 1994. – Vol. 137, №2. – P.251–261.
145. Tsimberidou, A.M. Strategies to Overcome Clinical, Regulatory, and Financial Challenges in Implementation of Personalized Medicine American Society of Clinical Oncology / A.M. Tsimberidou, U. Ringborg, R.L. Schilsky // American Society of Clinical Oncology educational book. American Society of Clinical Oncology. Annual Meeting – 2013. URL: <https://meetinglibrary.asco.org/record/78783/edbook> (дата обращения: 01.03.2019).
146. Turusov V.S. (Ed.) Pathology of tumours in laboratory animals. Vol. 1. Tumours of the rat. (IARC Scientific Publications № 99.) / V.S. Turusov, U. Mohr. – Lyon: IARC, 1990. – 766p.
147. Vinogradova, I.A. Circadian disruption induced by light-at-night accelerates aging and promotes tumorigenesis in rats / I. A. Vinogradova, V. N. Anisimov, A. V. Bukalev, A. V. Semenchenko, M. A. Zabezhinski // *Aging (Albany NY)* – 2009. – Vol. 1, №10. – P.855–865.
148. Wagoner, J.K. Radiation as the cause of lung cancer among uranium miners / J. K. Wagoner, V. E. Archer, F. E. Lundin Jr, D. A. Holaday, J. W. Lloyd // *New England Journal of Medicine* – 1965. – Vol. 273, №4. – P.181–188.
149. Wakeford, R. Radiation in the workplace—a review of studies of the risks of occupational exposure to ionising radiation / R. Wakeford // *Journal of Radiological Protection* – 2009. – Vol. 29, №2A. – P.61–79.



150. Wattenberg, L.W. Chemoprevention of cancer of the upper respiratory tract of the Syrian golden hamster by aerosol administration of difluoromethylornithine and 5-fluorouracil / L. W. Wattenberg, T. S. Wiedmann, R. D. Estensen // *Cancer Research* – 2004. – Vol. 64, №7. – P.2347–2349.
151. West, C.M. Intrinsic radiosensitivity and prediction of patient response to radiotherapy for carcinoma of the cervix / C. M. West, S. E. Davidson, S. A. Roberts, R. D. Hunter // *British journal of cancer* – 1993. – Vol. 68, №4. – P.819–823.
152. Wu, X.G. Anticarcinogenic effect of red ginseng on the development of liver cancer induced by diethylnitrosamine in rats / X.G. Wu, D.H. Zhu, X. Li // *Journal of Korean medical science*. – 2001. – Vol. 16, Suppl. – P. 61-65.
153. Yaromina, A. Individualization of cancer treatment from radiotherapy perspective / A. Yaromina, M. Krause, M. Baumann // *Molecular oncology* – 2012. – Vol. 6, №2. – P.211–221.
154. Yen, L.C. Detection of KRAS oncogene in peripheral blood as a predictor of the response to cetuximab plus chemotherapy in patients with metastatic colorectal cancer / L.C. Yen, Y.S. Yeh, C.W. Chen, H.M. Wang, H.L. Tsai, C.Y. Lu, Y.T. Chang, K.S. Chu, S.R. Lin, J.Y. Wang // *Clinical Cancer Research* – 2009. – Vol. 15, №13. – P.4508–4513.
155. Yoo, S.S. Mitigating the risk of radiation-induced cancers: limitations and paradigms in drug development / S. S. Yoo, T. J. Jorgensen, A. R. Kennedy, J. D. Boice Jr, A. Shapiro, T. C. Hu, B. R. Moyer, M. B. Grace, G. J. Kelloff, M. Fenech // *Journal of Radiological Protection* – 2014. – Vol. 34, №2. – P.25–52.
156. Youn, A. Identifying cancer driver genes in tumor genome sequencing studies / A. Youn, R. Simon // *Bioinformatics* – 2010. – Vol. 27, №2. – P.175–181.
157. Yu, M. Circulating breast tumor cells exhibit dynamic changes in epithelial and mesenchymal composition / M. Yu, A. Bardia, B. S. Wittner, S. L. Stott, M. E. Smas, D. T. Ting, S. J. Isakoff, J. C. Ciciliano, M. N. Wells, A. M. Shah // *Science* – 2013. – Vol. 339, №6119. – P.580–584.
158. Yun, T.K. Experimental and epidemiological evidence on non-organ specific cancer preventive effect of Korean ginseng and identification of active compounds / T.K. Yun // *Mutation Research* – 2003. – Vol. 523 – P.63–74.

159. Yun, T.K. Non-organ specific cancer prevention of ginseng: a prospective study in Korea / T.K. Yun, S.Y. Choi // *International journal of epidemiology* – 1998. – Vol. 27, №3. – P.359–364.
160. Yun, T.K. Preventive effect of ginseng intake against various human cancers: a case-control study on 1987 pairs. / T.K. Yun, S.Y. Choi // *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers* – 1995. – Vol. 4, №4. – P.401–408.
161. Yun, T.K. Anticarcinogenic effect of *Panax ginseng* CA Meyer and identification of active compounds. / T. K. Yun, Y. S. Lee, Y. H. Lee, S. I. Kim, H. Y. Yun // *Journal of Korean medical science* – 2001. – Vol. 16, Suppl. – P.6–18.
162. Yun, T.-K. Non-organ-specific preventive effect of long-term administration of Korean Red Ginseng extract on incidence of human cancers / T.-K. Yun, S. Zheng, S.-Y. Choi, S. R. Cai, Y.-S. Lee, X. Y. Liu, K. J. Cho, K. Y. Park // *Journal of medicinal food* – 2010. – Vol. 13, №3. – P.489–494.
163. Zhu, F. HtrA1 regulates epithelial–mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma / F. Zhu, Y.-F. Duan, W.-Y. Bao, W.-S. Liu, Y. Yang, H.-H. Cai // *Biochemical and biophysical research communications* – 2015. – Vol. 467, №3. – P.589–594.