

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭКСТРАКТА ВЕСЕЛКИ ОБЫКНОВЕННОЙ В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ОНКОЗАБОЛЕВАНИЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Е.М. Кадукова¹, Т.И. Терпинская², С.Н. Сушко¹, А.Ф. Маленченко¹

ГНУ «Институт радиобиологии НАН Беларуси», г. Гомель¹

ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», г. Минск²

246007, Республика Беларусь, г. Гомель, ул. Федюнинского, 4, e-mail: Helena.kad@mail.ru¹

Употребление водного экстракта веселки обыкновенной в профилактическом и лечебном режиме значительно увеличивает выживаемость и улучшает общее состояние мышей, подвергнутых общему однократному облучению в дозе 7 Гр. При приеме экстракта веселки мышьями-носителями аденокарциномы Эрлиха выявлена тенденция к торможению скорости опухолевого роста и снижению объемов опухоли, а также показана возможность повышения эффективности противоопухолевого алкилирующего препарата циклофосфана.

Ключевые слова: аденокарцинома Эрлиха, циклофосфан, гамма-облучение, водный экстракт веселки обыкновенной.

EXTRACT OF PHALLUS IMPUDICUS AS AN ADDITIONAL COMPONENT IN CANCER TREATMENT (EXPERIMENTAL INVESTIGATION)

E.M. Kadukova¹, T.I. Terpinskaya², S.N. Sushko¹, A.F. Malenchenko¹

Institute of Radiobiology of NAS of Belarus, Gomel¹

Institute of Physiology of NAS of Belarus, Minsk²

4, Fedyuninskogo Street, 246007-Gomel, Belarus Republic,

e-mail: Helena.kad@mail.ru¹

Aqueous extract of *Ph. impudicus* given to mice exposed to single dose 76 Gy external irradiation resulted in significant increase in survival rate and improvement of general state of mice. Extract of *Ph. impudicus* showed a tendency to tumor growth inhibition and increase in efficacy of cyclophosphan-containing cytostatic therapy in mice with Ehrlich adenocarcinoma.

Key words: Ehrlich adenocarcinoma, cyclophosphan, single external irradiation, aqueous extract of the mushroom *Phallus impudicus*.

В современной медицине для лечения злокачественных новообразований широко используются ионизирующее излучение, хирургическое удаление опухолей и цитостатические препараты. Несмотря на высокую эффективность современных методов противоопухолевого лечения, они имеют ряд существенных недостатков и не дают полной гарантии на выздоровление, тогда как нарушения, возникающие у пациентов при этом, трудно поддаются коррекции, так как арсенал средств такого рода ограничен. Известно, что для этой цели пригодны модификаторы биологических реакций, к которым относятся препараты растительного происхождения, продукты моря, грибы, с помощью которых можно улучшить качество жизни онкологических больных. Эти средства обладают широким спектром действия, низкой токсичностью, их применение не вызывает осложнений и нежелательных побочных эффектов [1].

В последние годы проявляется особый интерес к базидиальным грибам как источником новых эффективных и безопасных противоопухолевых природных веществ [4]. На основе грибных компонентов разработаны и поступили в продажу на мировом рынке такие противораковые препараты, как «Лентинан» (на основе *Lentinus edodes*), «Крестин» (из *Trametes versicolor*) и «Шизофиллан» (из *Schizophyllum commune*). В 1993 г. на долю «Крестина» приходилось 25 % всех противоопухолевых лекарств, продаваемых в Японии.

Большинство препаратов из грибов в настоящее время не производятся и не имеют разрешения на медицинское применение как в России, так и в Беларуси. Таким образом, сохраняют актуальность экспериментальные исследования по поиску грибов-базидиомицетов, обладающих противоопухолевой активностью, оценке влияния их употребления на различных

моделях патологических состояний, в том числе противоопухолевого действия при введении подопытным животным.

Материал и методы

Работа выполнена на мышах линии Af 2–3-месячного возраста массой 19–22 г. Животные находились в стационарных условиях вивария при температуре $21,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$, имели свободный доступ к воде и пище. Животные контрольной и опытных групп подвергались действию однократного общего гамма-облучения в дозе 7 Гр на установке с источником ^{137}Cs . После облучения все группы мышей находились на стандартном рационе вивария. Мыши опытных групп получали вместо воды без ограничения водный экстракт гриба веселка обыкновенная (*Phallus impudicus*) (4 г высушенных плодовых тел на 1 л воды): 1-я группа – в течение 7 сут до облучения; 2-я – в течение 7 сут после облучения. Изучалась выраженность клинической картины острой лучевой болезни по параметрам выживаемости облученных мышей и динамике изменения массы тела (взвешивание производилось каждые 3 сут, первое взвешивание – через 3 сут после облучения).

Исследования по изучению влияния водного экстракта гриба на развитие опухолевого процесса и эффективность противоопухолевой терапии циклофосфаном (ЦФ) при их совместном применении проводились на мышах-самках линии Af, которым перевивались под кожу клетки асцитной аденокарциномы Эрлиха (АКЭ) в дозе 6 млн на мышь согласно общепринятой методике [3]. Половине всех животных после перевивки опухолевых клеток ежедневно давали с питьем водный экстракт веселки обыкновенной, остальные мыши пили водопроводную воду. Через 1 и 2 нед после перевивки опухоли половине животных, которые пили экстракт веселки, и половине животных, которые пили водопроводную воду, однократно внутривентриально вводился цитостатический препарат ЦФ в дозе 100 мг/кг, остальные мыши получали эквивалентные количества физиологического раствора. О скорости роста опухоли судили по изменению её объема. Объем опухоли определяли по формуле: $V = (a \times b \times c \times \pi) / 6$, где a, b, c – три взаимно перпендикулярных диаметра опухоли,

$1/6 \pi = 0,52$ – постоянная величина, V – объем опухоли (в см^3). Вычисляли торможение роста опухоли (ТРО, %) при раздельном и комбинированном режиме лечения ЦФ и экстрактом веселки по формуле

$$\text{ТРО} = (V_{\text{к}} - V_{\text{оп}}) / V_{\text{к}} \times 100 \%,$$

где $V_{\text{к}}$ – средний объем опухоли в контроле, $V_{\text{оп}}$ – средний объем опухоли в опытной группе. Определяли процент животных, у которых наблюдалась практически полная регрессия опухоли (были менее $0,07 \text{ см}^3$ или не прощупывались при пальпировании).

Результаты и обсуждение

Известно, что клиническая картина острой лучевой болезни проявляется диспептическим, костно-мозговым и другими синдромами. Диспептический синдром после однократного облучения мышей в дозе 7 Гр проявлялся выраженным снижением массы экспериментальных животных на протяжении 14–18 сут после воздействия. Результаты исследования показали, что этот синдром у мышей, которые пили экстракт гриба, как до, так и после облучения был выражен слабее, что проявилось как меньшим снижением массы тела, так и более ранним ее восстановлением до уровня нормы (табл. 1).

Кроме того, у мышей, употреблявших экстракт веселки, возрастало количество выживших животных. Так, в группе мышей, которые в течение недели после облучения пили водный экстракт гриба, количество выживших животных было в 2,7 раза выше, чем в группе облученных мышей, принимавших воду (табл. 1). Наибольший положительный эффект от употребления экстракта веселки на состояние животных, подвергнутых облучению, отмечался при профилактическом приеме. Так, выживаемость мышей при этом увеличивалась в 3,95 раза по сравнению с облученными мышами, которые пили воду.

Таким образом, введение животным водного раствора плодовых тел *Ph. impudicus* ослабляло выраженность клинической картины развития лучевой болезни, вызванной общим γ -излучением. Это проявлялось в увеличении выживаемости мышей и нормализации массы тела. При сохранении этих свойств у искусственно культивируемых грибов веселки

Таблица 1

**Изменение средней массы тела (г) и выживаемости мышей линии Af
после общего однократного γ -облучения в дозе 7 Гр
на фоне приема водного экстракта веселки обыкновенной**

Облучение 7 Гр	Профилактический прием экстракта веселки + облучение 7 Гр	Облучение 7 Гр + лечебный прием экстракта веселки
16,03 ± 1,91	16,51 ± 1,83	16,28 ± 1,62
15,36 ± 2,11	18,12 ± 1,53*	16,32 ± 2,68
14,37 ± 3,08	17,96 ± 2,08*	15,9 ± 2,15
17,1 ± 4,3	20,35 ± 2,16	15,34 ± 1,93
21,55 ± 3,07	21,49 ± 1,85	19,16 ± 1,74
Выживаемость мышей через 30 сут (%)		
21,1	83,3	56,5

Примечание: * – различия статистически значимы по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

Таблица 2

Объем аденокарциномы Эрлиха у мышей линии Af на фоне приема водного экстракта веселки обыкновенной (введение циклофосфана через 2 нед после перевивки опухоли)

Группа животных	Объем опухоли (см ³), (количество животных), % торможения					
	Время после трансплантации опухоли, сут					
	14	21	31	36	42	48
АКЭ	1,00 ± 0,21 (22)	7,32 ± 1,67 (9)	2,47 ± 1,39 (3)	-	-	-
АКЭ + веселка	1,2 ± 0,17 (24)	4,77 ± 0,86 (12) 34,8 %	1,76 (1) 28,7 %	7,16 (1)	-	-
АКЭ + ЦФ		3,08 ± 0,98* (8) 57,9 %	0,91 ± 0,50 (3) 63,2 %	0,62 ± 0,45 (3)	0,30 ± 0,21 (3)	Полная регрессия (2) -
АКЭ+ веселка + ЦФ		2,60 ± 0,46* (11) 64,5 %	0,33 ± 0,19 (4) 86,6 %	0,17 ± 0,02 (3)	0,08 ± 0,02 (3)	Полная регрессия (3)

Примечание: * – различия статистически значимы по сравнению с группой «АКЭ» контролем ($p < 0,05$).

они могут являться источником для создания лечебно-профилактических препаратов, применяемых в том числе для стабилизации состояния онкологических больных при лучевой терапии.

В эксперименте на мышах линии Af с перевиваемой АКЭ показано, что при приеме экстракта веселки наблюдается тенденция к снижению объема опухоли: через 21 день после трансплантации АКЭ ТРО составило 34,8 %; различий по выживаемости не выявлено (табл. 2).

Введение мышам-опухоленосителям ЦФ через 2 нед после перевивки АКЭ привело к снижению объема опухоли на 57,9 % (через 21

день после ее перевивки, табл. 2). Добавление в схему лечения экстракта веселки вызывало еще более значительное торможение роста опухоли – на 64,5 % по сравнению с носителями АКЭ, не получившими лечения, и на 15,6 % по сравнению с животными, обработанными ЦФ. У мышей, проживших 31 и более сут после перевивки опухоли, сохранялась та же тенденция. Средние значения объема опухоли в группе мышей, получавших комбинированную терапию, на протяжении всего эксперимента были ниже, чем в группе цитостатического лечения в аналогичный срок, на 63,7, 72,6 и 73,3 % через 31, 36 и 42 сут после инокуляции животным

**Объем перевитой аденокарциномы Эрлиха у мышей линии Af
на фоне приема водного экстракта веселки обыкновенной
(введение циклофосфана через 1 нед после перевивки опухоли)**

Группа животных	Объем опухоли (см ³), (количество животных)						
	Время после трансплантации опухоли, сут						
	7	10	15	21	27	31	36
АКЭ	0,92 ± 0,13 (16)	2,29 ± 0,65 (7)	1,07 ± 0,51 (2)	2,44 ± 1,24 (2)	7,06 ± 0,58 (2)	8,95 (1)	-
АКЭ + веселка	0,73 ± 0,09 (15)						
АКЭ + ЦФ		2,19 ± 0,24 (9)	2,29 ± 0,27 (8)	3,45 ± 0,36 (7)	8,3 ± 0,9 (7)	8,17 ± 1,17 (2)	-
АКЭ + веселка + ЦФ		1,64 ± 0,18 (15)	2,07 ± 0,29 (11)	3,37 ± 0,46 (9)	7,86 ± 1,21 (9)	1,88 ± 0,19 (2)	2,21 ± 0,43 (2)

опухоли соответственно. Использование для лечения мышей-опухоленосителей ЦФ в комбинации с приемом водного экстракта веселки обыкновенной увеличило долю вылеченных животных, у которых опухоль подверглась практически полной регрессии – 25 % в группе «ЦФ + веселка» и 17 % – в группе «ЦФ».

При иной схеме лечения, когда цитостатик вводился через 1 нед после перевивки мышам АКЭ, его действие выразилось в увеличении выживаемости мышей, получивших препарат: через 15 сут после трансплантации опухоли она составила 88,9 % и 73,3% в группах «АКЭ + ЦФ» и «АКЭ + ЦФ + веселка» соответственно, при выживаемости в контроле 28,6 % ($p < 0,05$ в обоих случаях); отмеченная тенденция сохранялась в течение 27 сут роста опухоли. Объем опухоли у животных, которые пили экстракт веселки, был ниже, чем у леченных ЦФ, на 25, 10, 3, 5 и 77 % через 10, 15, 21, 27 и 31 сут после трансплантации опухоли соответственно, во всех случаях при сравнении показателей на аналогичных сроках $p > 0,05$; достоверных различий по выживаемости также не наблюдали (табл. 3).

Таким образом, при приеме экстракта веселки мышами-носителями АКЭ наблюдается тенденция к торможению скорости опухолевого роста и снижению объемов опухоли; прием экстракта веселки также несколько усиливает эффект алкилирующего противоопухолевого препарата ЦФ, действуя синергично с послед-

ним. Не выявлено ускорения опухолевого роста или снижения продолжительности жизни опухоленосителей при приеме экстракта веселки или применении его на фоне лечения ЦФ.

По механизму действия активные вещества грибов, обладающие противораковой активностью, делят на две основные группы. Первая объединяет вещества, которые оказывают воздействие непосредственно на клетки опухоли, во вторую входят соединения, воздействующие на опухоль опосредованно, за счет стимуляции иммунитета. Основная часть соединений второй группы представлена полисахаридами. Противоопухолевые и иммуномодулирующие свойства полисахаридов грибов описаны в ряде работ [10, 11]. Сообщается, что все эти соединения имеют 1-3-бета-гликановые группы в главной цепи и дополнительные 1-6-бета-гликановые группы в боковых цепях, которые необходимы для проявления их противоопухолевой активности. Результаты экспериментальных исследований, в которых выявлялась противоопухолевая активность веществ и препаратов из грибов, показали, что они способны подавлять ангиогенез [9], индуцировать апоптоз клеток культуры рака путем активации проапоптотических белков и каспаз митохондриальным цитохромом С [8], снижать повышенную активность В-клеток и потенцировать активацию Т-хелперов [7], увеличивать число моноцитов и гранулоцитов при лейкопении, вызванной введением ЦФ [6].

В механизме противоопухолевого действия препаратов из грибов, как и растительных препаратов аналогичного действия, значительная роль отводится флавоноидам. Механизм противоопухолевого действия последних связывают с их способностью понижать активность цитоплазматической и митохондриальной АТФ-аз, что вызывает дефицит АДФ и неорганического фосфата, вследствие чего ингибируется гликолиз и подавляется развитие опухолевых клеток. Выявлено, что биофлавоноиды повышают активность естественных киллерных клеток у мышей и генов-супрессоров, которые вызывают супрессию онкогенов [5]. В настоящее время флавоноиды рассматриваются как один из наиболее перспективных источников получения препаратов, способных не только проявлять прямое цитостатическое воздействие на опухоль, но и стимулировать иммунологические реакции организма [2].

Экстракты лечебных грибов, в том числе и веселки обыкновенной, обладают высокой антиоксидантной активностью, в связи с чем они способны препятствовать избыточной генерации свободных радикалов, уменьшать их концентрацию в мембранах, защищая молекулы ДНК от перекисления [11]. Известно, что метаболиты ЦФ индуцируют перекисное окисление липидов, продукты которого нарушают структуру и функции мембран, что, в свою очередь, нарушает все энергетические процессы клетки. Инактивация свободнорадикальных соединений антиоксидантами восстанавливает функциональные показатели иммунной системы, что может обуславливать противоопухолевый эффект экстракта веселки.

Учитывая тот факт, что химио- и лучевая терапия являются стрессорным воздействием на организм, приводящим к иммунодепрессии, введение в схему лечения экстракта веселки способно стимулировать иммунитет, улучшая качество жизни и усиливая неспецифическую резистентность. В связи с вышеизложенным представляются перспективными дальнейшие исследования по использованию экстракта веселки обыкновенной в качестве дополни-

тельного компонента в комплексном лечении злокачественных новообразований.

Выводы

1. Установлено, что употребление водного экстракта веселки обыкновенной в профилактическом и лечебном режиме значительно увеличивает выживаемость и улучшает общее состояние мышей, подвергнутых общему однократному облучению в дозе 7 Гр.

2. При приеме экстракта веселки мышам-носителями АКЭ выявлена тенденция к торможению скорости опухолевого роста и снижению объемов опухоли, а также к усилению эффекта противоопухолевого алкилирующего препарата циклофосфана.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вершинина С.Ф., Потявина Е.В. Применение природных биорегуляторов в онкологии // Вопросы онкологии. 2003. Т. 49, № 2. С. 145–151.
2. Капля О.А., Шерстобоев Е.Ю., Зуева Е.П. и др. Влияние экстракта шлемника байкальского и его комбинации с циклофосфаном на состояние системы естественной цитотоксичности у мышей с карциномой легких Льюис // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2004. Т. 137, № 5. С. 538–541.
3. Софьина З.П., Сыркин А.Б., Голдин А., Кляйн А. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США. М.: Медицина, 1980. 296 с.
4. Экспериментальные и клинические исследования противоопухолевого действия препарата ОВО-Д (экстракт мицелля вешенки). Информационные материалы. Вып. 1. М.: ООО «НИПК Пульмомед», 2007. 31 с.
5. Futami H. Flavone acetic acid directly induces expression of cytokine genes in mouse splenic leukocytes but not in human peripheral blood leukocytes // Cancer Res. Vol. 51. P. 6596–6602.
6. Harada T., Masuda S., Arai M. et al. Soy isoflavone aglycone modulates a hematopoietic response in combination with soluble beta-glucan: SCG // Biol. Pharm. Bull. 2005. Vol. 28 (12). P. 2342–2345.
7. Ho J. C., Konerding M.A., Gaumann A. et al. Fungal polysaccharopeptide inhibits tumor angiogenesis and tumor growth in mice // Life Sci. 2004. Vol. 75 (11). P. 1343–1356.
8. Inoue A., Kodama N., Nanba H. Effect of maitake (*Grifola frondosa*) D-fraction on the control of the T lymph node Th-1/Th-2 proportion // Biol. Pharm. Bull. 2002. Vol. 25 (4). P. 536–540.
9. Kobayashi H., Yoshida R., Kanada Y. et al. Suppressing effects of daily oral supplementation of beta-glucan extracted from *Agaricus blazei* Murill on spontaneous peritoneal disseminated metastasis in mouse model // J. Cancer Res. Clin. Oncol. 2005. Vol. 131 (8). P. 527–538.
10. Monro J.A. Treatment of cancer with mushroom products // Arch. Environ. Health. 2003. Vol. 58 (8). P. 533–537.
11. Wasser S.P. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2002. Vol. 60 (3). P. 58–74.

Поступила 19.05.10