

ВОДОРАСТВОРИМЫЙ ПОЛИСАХАРИД ИЗ *Heliantnus tuberosus* L.: РАДИОЗАЩИТНАЯ, КОЛОНИЕСТИМУЛИРУЮЩАЯ И ИММУНОМОДУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ

© 2015 г. Е.А. Генералов

Физический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова,
119991, Москва, Ленинские горы, 1/2

E-mail: generals1179@gmail.com

Поступила в редакцию 11.11.14 г.

Получены экспериментальные данные, свидетельствующие о наличии у полисахарида из *Heliantnus tuberosus* L. с молекулярной массой 1–2 МДа иммуномодулирующей активности, колониестимулирующих и радиозащитных свойств. Изучено влияние различных концентраций углевода на продукцию фактора некроза опухолей- α , интерлейкина- 1β и интерлейкина-6. Обсуждается природа радиопротекторных свойств полисахарида: стимуляция роста колоний гемопозитических стволовых клеток, прямое взаимодействие с продуктами ионизирующего излучения и стимуляция цитокиновых каскадов. Обсуждается возможность применения полисахарида в качестве радиопротектора и колониестимулятора.

Ключевые слова: радиозащита, колониестимуляция, иммуномодуляция, цитокиновая активность, полисахарид.

Радиопротекторы – химические вещества, при введении в организм нивелирующие последствия воздействия ионизирующего излучения [1]. Необходимость использования первых радиопротекторов была обусловлена необходимостью применения источников ионизирующего излучения в первую очередь в военной сфере, а после – в гражданской. Трагедии прошлого века (авария на Чернобыльской АЭС) и нынешнего (авария на Фукусиме), а также отсутствие эффективных методов защиты от ионизирующего излучения ставят перед исследователями задачу по поиску новых радиопротекторов для оборонных нужд и экстренных служб. Кроме того, радиопротекторы необходимы для повышения эффективности курсов лучевой терапии у онкологических больных. Некоторые очищенные полисахариды проявляли свойства радиопротекторов [2–4]. Такие же свойства были обнаружены и у *Heliantnus tuberosus* L. [5].

Было замечено, что экстрагированные и очищенные полисахариды растений оказывают ярко выраженное регенеративное, противовоспалительное, антиоксидантное, гепатопротекторное и противорадиационное воздействие, стимулируют процессы кроветворения, активируют функции

иммунной системы при введении в организм, как здоровых животных, так и животных с различными видами патологий, что свидетельствует о возможности использования полисахаридов в качестве радиопротекторов [6–8].

Вместе с тем полисахариды, воздействуя на гемопозитические стволовые клетки, стимулируют гемопоэз у здоровых, анемичных и облученных животных в костном мозге и в селезенке, стимулируя миелоидный, эритроидный и лимфоидный ростки кроветворения, что приводит к увеличению эритробластных островков в облученном костном мозге и числа эритроцитов в крови [9,10]. С этим, помимо прямого взаимодействия с продуктами ионизирующего излучения полимеров и серы, содержащейся в них, связывают радиопротекторные свойства углеводов [11,12]. Цитокиновые каскады и иммуномодулирующая активность также позволяют нивелировать последствия воздействия облучения [13–15]. Поиск наиболее эффективных радиопротекторов среди полисахаридов продолжается, и данная работа посвящена изучению радиозащитной и иммуномодулирующей активности природного полисахарида из *Heliantnus tuberosus* L.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Растительный полисахарид был выделен, очищен и получен для исследования в лабора-

Сокращения: ФНО – фактор некроза опухолей, ИЛ – интерлейкин, МПК – мононуклеары периферической крови, ЛПС – липополисахарид.

тории «Ltd. Pte. Polylab». Полисахарид имеет молекулярную массу в интервале 1–2 МДа и хорошо растворим в воде.

Влияние на продукцию фактора некроза опухолей α (ФНО- α), интерлейкина-1 β (IL-1 β) и интерлейкина-6 (IL-6) клетками человека и животных. Влияние на продукцию ФНО- α . Методом градиентного центрифугирования из периферической крови здоровых доноров выделяли мононуклеарные клетки, которые дважды отмывали забуференным фосфатом изотоническим раствором NaCl. Клетки ресуспендировали в среде RPMI 1640 (ICN, Великобритания) с добавлением 10% фетальной бычей сыворотки (Flow, Великобритания), 20 мкг/мл гентамицина, 2 мМ L-глутамин и 2 мМ HEPES, $2,8 \cdot 10^{-6}$ М 2-меркаптоэтанола. Суспензию мононуклеаров периферической крови (МПК) с концентрацией 10^6 клеток/мл и объемом 1,5 мл/лунка культивировали 12 ч в 24-луночной панели (Nunc, Дания) при температуре 37°C с липополисахаридом (ЛПС) в концентрации 0,1 мкг/мл во влажной атмосфере, содержащей 5% CO₂, или без липополисахарида. Влияние полисахарида на продукцию цитокинов исследовали в дозах 1, 3, 10, 30 и 100 мкг/мл.

По методу Рафа и Гилфорда [16] определяли активность ФНО в надосадочных жидкостях. При температуре 37°C инкубировали клетки L-929 концентрацией $3 \cdot 10^5$ клеток в лунке в 96-луночных планшетах со средой 199 на растворе Хенкса с 10% инактивированной сывороткой крупного рогатого скота до возникновения монослоя. Культуральную среду удаляли и вносили по 100 мкл двукратных серийных разведений исследуемых образцов надосадочной жидкости и 100 мкл свежей среды с актиномицином D (Sigma, США) в концентрации 2 мкг/лунка. Клетки инкубировали 18 ч в тех же условиях. Для учета выживших клеток в лунку панели заливали 0,2% раствор кристалл-виолетта (Sigma, США) в 2% этаноле на 15 мин, промывали проточной водой и высушивали. Оптическую плотность окрашенных клеток определяли на спектрофотометре с вертикальным лучом Multiscan (Великобритания) при длине волны 540 нм. В качестве стандарта были выбраны различные концентрации рекомбинантного ФНО- α человека. Для построения калибровочной кривой применяли метод экспоненциальной регрессии.

Определение активности IL-1. Определение содержания IL-1 в супернатантах проводили с помощью IL-1-чувствительной мышшиной линии Т-клеток хелперов клона D10.G4.1. Клетки культивировали в среде RPMI 1640, с добавлением 10% фетальной бычей сыворотки, 2 мМ

L-глутамин, 50 мМ 2-меркаптоэтанола и 10% мышшиного ростового фактора – источника IL-2. Ростовый фактор получали из супернатанта культивированных спленцитов мышей линии DBS/2J в среде RPMI 1640 с добавлением 1% фетальной бычей сыворотки в присутствии 1 мкг/мл конканавалина А. Кональбумин и облученные клетки селезенки самцов мышей линии CBA/2 (H-2k) (Sigma, США) использовали в качестве антигена и фидерных клеток соответственно.

Клетки D10.G4.1 использовали на 10–12-е сутки культивирования после добавления антигена и фидерных клеток, инкубировали в течение 65 ч в присутствии серийных разведений (1:20 – 1:200) исследуемых надосадочных жидкостей в 96-луночных плоскодонных планшетах ($2 \cdot 10^4$ кл/мл) в среде RPMI 1640 с добавлением 5% фетальной бычей сыворотки, 2 мМ L-глутамин и 2,5 мкг/мл конканавалина А в 5% влажной атмосфере. За 4 ч до окончания культивирования в культуру вносили 40 кБк (1 мкКи) на лунку H³-тимидина. Клетки переносили на стеклянные фильтры и оценивали интенсивность включения радиоактивной метки с помощью жидкостного сцинтилляционного спектрофотометра [17].

Определение активности IL-6. Определение содержания IL-6 в супернатантах проводили с помощью IL-6-зависимой гетерогридомы D6C8 [18]. Серийные разведения надосадочных жидкостей и рекомбинантный IL-6 (код 89/45, NIBSC, Великобритания), в качестве стандарта, инкубировали в 96-луночных плоскодонных планшетах с клетками ($5 \cdot 10^4$ клеток/лунка) в 200 мкл при 37°C. Клетки культивировали 48 ч в RPMI 1640, содержащей 5% диализованную сыворотку АВ группы крови человека. За 4 ч до окончания культивирования в культуру вносили 40 кБк (1 мкКи) на лунку [H³]-тимидина. Клетки переносили на стеклянные фильтры и оценивали интенсивность включения радиоактивной метки с помощью жидкостного сцинтилляционного спектрофотометра [18].

Модель выживаемости гемопоэтических стволовых клеток. Опыты проводили на самцах мышей линии F1(CBAxС57Bl/6) с массой тела 20–22 г. Соединение вводили внутривенно за 1 и 3 ч до и через 1 и 24 ч после облучения соответственно, в дозе 10 мкг/животное. Лабораторных животных (пять групп по 12 животных) подвергали воздействию гамма-излучения (источник Co⁶⁰) в дозе 600 рад на аппарате «Луч» при мощности дозы 52,63 рад/мин. Контрольной группой служили только облученные животные. Через восемь суток проводили эвтаназию мышей путем введения раствора нембутала в расчете 60 мг/кг внутрибрюшинно.

Таблица 1. Уровень продукции ФНО (пкг/мл) мононуклеарами периферической крови здоровых доноров после 12-часовой инкубации без добавления ЛПС

Номера доноров	Дозы полисахарида, мкг/мл					
	Контроль	1	3	10	30	100
1	291 ± 26	971 ± 27*	958 ± 101*	1534 ± 134*	1488 ± 37*	1107 ± 62*
2	27 ± 6	33 ± 5	61 ± 9*	128 ± 11*	40 ± 5	49 ± 10
3	5 ± 1	24 ± 6*	33 ± 12*	37 ± 12*	32 ± 12*	42 ± 11*
4	41 ± 3	199 ± 69*	164 ± 33*	252 ± 41*	298 ± 17*	15 ± 2*
5	227 ± 21	752 ± 53*	784 ± 31*	973 ± 119*	995 ± 76*	388 ± 26*
6	152 ± 24	148 ± 15	72 ± 13*	86 ± 9*	811 ± 23*	3 ± 1*
7	1012 ± 93	2287 ± 239*	2665 ± 217*	3719 ± 229*	3222 ± 261*	3211 ± 297*
8	219 ± 6	249 ± 22	324 ± 30*	656 ± 58*	522 ± 23*	417 ± 15*
9	19 ± 4	177 ± 83*	205 ± 31*	237 ± 34*	8 ± 2*	4 ± 1*

Примечание. * $p < 0,05$ (по сравнению с контролем).

Таблица 2. Уровень продукции ФНО (пкг/мл) мононуклеарами периферической крови здоровых доноров после 12-часовой инкубации в присутствии ЛПС

Номера доноров	Дозы полисахарида, мкг/мл					
	Контроль	1	3	10	30	100
1	191 ± 12	277 ± 43*	215 ± 15	265 ± 19*	274 ± 25*	314 ± 21*
2	29 ± 4	257 ± 34*	322 ± 37*	383 ± 25*	379 ± 25*	380 ± 25*
3	748 ± 42	228 ± 15*	600 ± 50*	678 ± 30	936 ± 158*	1177 ± 137*
4	149 ± 33	131 ± 18	155 ± 14	126 ± 12	201 ± 11	189 ± 25
5	23 ± 6	52 ± 12	36 ± 5	62 ± 5*	35 ± 5	26 ± 4
6	2072 ± 68	1861 ± 179	2045 ± 110	2523 ± 156	2038 ± 108	1391 ± 64*
7	52 ± 13	46 ± 11	39 ± 9	56 ± 12	47 ± 9	76 ± 13
8	31 ± 8	271 ± 49*	428 ± 79*	298 ± 28*	451 ± 77*	183 ± 33*
9	416 ± 14	266 ± 29*	400 ± 23	866 ± 222*	575 ± 54*	475 ± 34

Примечание. * $p < 0,05$ (по сравнению с контролем).

После этого производили извлечение селезенки, которую взвешивали и помещали для фиксации в свежеприготовленный раствор уксуснокислого спирта (3 части 95% этилового спирта и 1 часть ледяной уксусной кислоты). Фиксация селезенки длилась 2 ч, после чего орган переносили в 70% раствор этилового спирта и производили подсчет образовавшихся на поверхности селезенки эндогенных селезеночных колоний, диаметром более 0,2 мм. В каждой группе вычисляли среднее число сформированных колоний и стандартную ошибку данного показателя.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние на продукцию ФНО- α , IL-1 β , IL-6.
Уровень продукции цитокинов в контрольных

культурах клеток различных доноров отличается гетерогенностью и не является стабильным признаком. В опыте, в котором изучали эффект полисахарида в различных использованных дозах на продукцию ФНО- α культурами МПК различных доноров (табл. 1), была получена сходная картина. При этом по изменению концентрации ФНО- α в надосадочных жидкостях регистрировали стимуляцию продукции данного цитокина у всех доноров.

В контрольных культурах пациентов, стимулированных ЛПС, не наблюдали замедления выработки ФНО при уровне выработки ниже 100 пкг/мл (табл. 2). При выработке ФНО более 100 пкг/мл в нестимулированных культурах не снижалась выработка цитокинов при использовании полисахарида в различной дозировке.

Таблица 3. Уровень продукции IL-1 в зависимости от дозировки полисахарида в отсутствие ЛПС из *N. Meningitidis* (0,1 мкг/мл)

Номера доноров	Дозы полисахарида, МЕ/мл					
	Контроль	1	3	10	30	100
1	17223 ± 1645	5496 ± 347	8056 ± 956	5250 ± 471	9371 ± 851	1872 ± 193
2	165 ± 12	867 ± 77*	1287 ± 107*	202 ± 25*	122 ± 11	380 ± 25*
3	51331 ± 3426	6558 ± 472	28712 ± 3844	3649 ± 243	29117 ± 6219	6189 ± 425

Примечание. * $p < 0,05$ (по сравнению с контролем).

Таблица 4. Уровень продукции IL-1 в зависимости от дозировки полисахарида в присутствии ЛПС из *N. Meningitidis* (0,1 мкг/мл)

Номера доноров	Дозы полисахарида, МЕ/мл					
	Контроль	1	3	10	30	100
1	14533 ± 1541	18145 ± 1671	13541 ± 977	3058 ± 212	1547 ± 98	3471 ± 313
2	42 ± 3	128 ± 14*	142 ± 17*	200 ± 25*	143 ± 16	143 ± 15*
3	4113 ± 35	6558 ± 472	18651 ± 1441	3557 ± 312	2971 ± 211	489 ± 45

Примечание. * $p < 0,05$ (по сравнению с контролем).

Однако наблюдалось ингибирующее действие некоторых концентраций полисахарида в нестимулированных культурах. У четырех из пяти доноров-продуцентов ФНО обнаружилось снижение уровня выработки цитокинов в культурах с добавлением ЛПС.

Мононуклеары периферической крови человека были получены от трех разных доноров. Начальный уровень продукции IL-1 различался у исследуемых доноров (табл. 3 и 4). В культуре клеток первого донора продукция цитокина была повышенной, тогда как в клетках второго донора наблюдался спад уровня выработки IL-1. В нестимулированной культуре МПК третьего донора продукция цитокина была очень высокой, но в клеточной культуре того же донора, простимулированной ЛПС, резко падала. Данные показывают, что при высокой продукции IL-1 (как спонтанной, так и ЛПС-индуцированной) внесение полисахарида в клеточные культуры доноров влекло за собой снижение количества высвобождаемого IL-1 (донор 1). Напротив, при низкой продукции цитокина (донор 2) наблюдалась стимуляция высвобождения IL-1. Результаты, полученные для культуры клеток донора 3, служат доказательством этой закономерности. Соответственно, при воздействии полисахарида на культуры МПК доноров подавляется высокий уровень продукции IL-1 и стимулируется низкий уровень ЛПС-индуцированной продукции IL-1.

Было показано отсутствие вариабельности в начальных уровнях продукции IL-6 в куль-

турах МПК трех исследуемых доноров (табл. 5 и 6). Внесение полисахарида в клеточные культуры доноров приводило к стимуляции выработки IL-6, одинаковой у всех доноров, за исключением случая нестимулированной культуры донора 3. Однако можно было наблюдать индивидуальные различия стимуляции продукции IL-6 в зависимости от доз полисахарида. Малые концентрации полисахарида (1–4 мкг/мл) у доноров 2 и 3 только стимулировали выработку ЛПС-индуцированного IL-6. Подобная стимуляция наблюдалась после внесения в клеточную культуру МПК донора 3 полисахарида в пределах диапазона доз 10–30 мкг/мл. Стимуляция продукции IL-6 в культурах МПК необработанных ЛПС происходила только при добавлении к ним относительно высоких доз полисахарида (доноры 1 и 2), тогда как у донора 3 не была обнаружена. Однако при больших концентрациях карбогидрата, возможно, будет наблюдаться подобная стимуляция.

Цитокины – клеточные медиаторы, представленные выше, образующие системы межклеточных сигналов, регулирующие различные процессы в организме (воспаление, вывод токсинов, репарация, иммунный ответ и т.д.). Возможность фармакологически воздействовать на данную систему позволяет управлять этими процессами. Известно, что, как и глюкокортикоиды, хлорпромазин [19] и 1,25 дегидрокси-витамин D3 [20] обладают таким же действием на выработку ФНО.

Таблица 5. Уровень продукции IL-6 в отсутствие ЛПС из *N. Meningitidis* (0,1 мкг/мл)

Номера доноров	Дозы полисахарида, МЕ/мл					
	Контроль	1	3	10	30	100
1	605 ± 57	687 ± 52	794 ± 91	806 ± 73	1147 ± 128	841 ± 81
2	481 ± 42	544 ± 44*	537 ± 41*	1463 ± 125*	1486 ± 131	840 ± 57*
3	566 ± 59	323 ± 29	265 ± 18	256 ± 21	301 ± 16	318 ± 25

Примечание. * $p < 0,05$ (по сравнению с контролем).

Таблица 6. Уровень продукции IL-6 в присутствии ЛПС из *N. Meningitidis* (0,1 мкг/мл)

Номера доноров	Дозы полисахарида, МЕ/мл					
	Контроль	1	3	10	30	100
1	641 ± 51	1145 ± 131	1040 ± 100	756 ± 62	1160 ± 98	841 ± 81
2	870 ± 76	870 ± 34*	841 ± 67*	1040 ± 100	1465 ± 133	943 ± 93*
3	456 ± 35	1040 ± 100	1065 ± 124	400 ± 19	389 ± 25	531 ± 45

Примечание. * $p < 0,05$ (по сравнению с контролем).

Таблица 7. Результаты опыта по тесту выживаемости гемопоэтических стволовых клеток

№ группы	Описание	Масса селезенки, мг $M \pm m$	Количество КОЕ-С в группе, $M \pm m$
1	Контроль, облучение 600 рад	31,5 ± 1,5	0,8 ± 0,1
2	Введение полисахарида за 3 ч до облучения	32,1 ± 0,5	1,6 ± 0,2 *
3	Введение полисахарида за 1 ч до облучения	33,8 ± 1,8	1,9 ± 0,4 *
4	Введение полисахарида через 1 ч после облучения	34,7 ± 1,4	1,9 ± 0,3 *
5	Введение полисахарида через 24 ч после облучения	33,0 ± 1,3	1,6 ± 0,3 *

Примечание. * – Статистически значимое ($p < 0,05$) различие с показателем контрольной группы по числу КОЕ-С.

Результаты, приведенные выше, демонстрируют модификацию содержания ФНО в культуре клеток в зависимости от концентраций добавленного полисахарида. В дозах до 30 мкг/мл это выражалось стимуляцией продукции ФНО, а в дозах свыше 30 мкг/мл – угнетением у некоторых доноров. Увеличение продукции цитокинов, которые являются радиопротекторами [21], скорее всего, связано как с активацией культуральных клеток, так и с увеличением скорости высвобождения цитокина.

Полисахарид стимулирует продукцию IL-6 МПК, более низкими дозами осуществляется стимуляция ЛПС-индуцированной продукции IL-6, по сравнению с отсутствием ЛПС. С другой стороны, полисахарид регулирует скорость выработки IL-1, угнетая высокую продукцию и стимулируя низкую. Учитывая отсутствие побочных эффектов, характерных для парентерального введения IL-1, ФНО или ЛПС, возможно предположить наличие у изучаемого по-

лисахарида мягкой стимуляции системы провоспалительных цитокинов и активации иммунологической защиты (увеличение скорости выработки антагонистов).

Модель выживаемости гемопоэтических стволовых клеток. Результаты опыта по оценке противолучевой активности полисахарида по тесту выживаемости гемопоэтических стволовых клеток, формирующих селезеночные колонии (КОЕ-С) на восьмые сутки после облучения мышей-гибридов F1(CBAxС57Bl/6), приведены в табл. 7.

Как можно видеть по тесту выхода КОЕ-С, все подопытные группы в 2,0–2,3 раза превышают значения контрольной группы. Это свидетельствует о наличии у исследуемого полисахарида способности защищать гемопоэтические стволовые клетки от действия ионизирующей радиации и стимулировать колониеобразование гемопоэтических стволовых клеток.

Результаты свидетельствуют о том, что в данных условиях полисахарид обладает противолучевой активностью. Исследованные дозы (1, 10 и 100 мкг/животное) проявляют одинаковую активность, что еще больше увеличивает терапевтическую широту. Обращает на себя внимание высокий терапевтический радиозащитный эффект полисахаридной фракции в течение первых суток после облучения. Это очень важное качество соединения дает возможность оказать экстренную помощь практически в любой точке земного шара. Применение полисахарида в качестве противолучевого агента обеспечивает высокий уровень защиты организма от воздействия ионизирующей радиации, из чего можно сделать вывод, что этот эффект обусловлен стимуляцией пролиферации гемопоэтических стволовых клеток и проявлением цитокиновой активности, способствующей быстрому восстановлению поврежденной кроветворной системы и других радиочувствительных тканей. В проведенных нами опытах у использованных лабораторных животных не было обнаружено побочных действий введенного до и после облучения полисахарида.

Исходя из полученных данных и физико-химических свойств изучаемого полисахарида, можно предположить, что радиозащитные свойства последнего обеспечиваются не только за счет активации цитокиновых каскадов и колониестимуляции, но и за счет инактивации свободных радикалов, что возможно благодаря наличию молекул серы в полисахариде. Наличие атомов серы позволяет молекулам полисахарида связывать свободные радикалы, предотвращая окисление мембран клеток организма. Также возможно, что «направленное» взаимодействие серосодержащих групп углевода с сульфгидрильными группами критически важных для выживания организма биологических молекул изолирует последние от воздействия свободных радикалов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Поскольку гемопоэтические стволовые клетки формируют клетки крови, которая обеспечивает жизнедеятельность организма, то лекарственная стимуляция пролиферации гемопоэтических стволовых клеток изученным препаратом полисахаридов приводит к повышению порога дозы облучения, необходимой для деструкции критического количества стволовых клеток с последующим развитием острого лучевого поражения организма. Кроме того, в противолучевой активности изучаемого нами препарата нельзя исключить его роль в про-

дукции ряда ключевых цитокинов, которые способствуют стимуляции различных регенеративных процессов в облученном организме.

Важной особенностью данного полисахарида является проявление терапевтического действия в широком диапазоне используемых доз препарата и в широком интервале времени введения, при которых наблюдается положительный эффект и отсутствие побочных эффектов.

Цитокины (лимфокины, монокины, интерфероны, IL-1, IL-6) проявляют противолучевое действие, основанное на их гемо- и иммуномодулирующей активности, а также способности повышать эндогенный фон радиорезистентности, сохраняя его длительное время. Однако прямое их использование затруднено в силу высокой токсичности. Препараты же, стимулирующие индукцию цитокинов, приводящие к опосредованной повышенной резистентности к облучению и ускоренным процессам вывода метаболитов (O_2 , H_2O_2 и др.) облучения, могут иметь широкое применение.

Учитывая обнаруженную способность полисахарида из *Heliantnus tuberosus* L. стимулировать выработку ФНО и IL-6, а также регулировать IL-1, возможно предположить, что радиопротекторные свойства, присущие данному веществу, заключаются не только в стимуляции пролиферации стволовых кроветворных клеток, но и в активации цитокиновых каскадов, которые активируют последующие регенеративные процессы организма. Обнаруженные в данной работе свойства препарата из группы полисахаридов позволяют считать целесообразным более глубокое изучение и использование данного вещества в качестве противолучевого и иммуномодулирующего агента.

Работа выполнена при финансовой поддержке «Ltd. Pte. Polylab».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. З. Бак, *Химическая защита от ионизирующей радиации* («Атомиздат», М., 1968).
2. T. G. Pillai, D. K. Maurya, P. V. Salvi, et al., *Ann. Transl. Med.* **2** (2), 13 (2014).
3. L. Zhao, Y. Wang, H. – L. Shen, et al., *Diels. Fitoterapia* **83**, 1712 (2012).
4. W. Xu, F. Yang, X. Shen, et al., *J. Radiat. Res.* **1**, (2014).
5. Е. А. Генералов, *Молекуляр. биофизика* **59** (3), 439 (2014).
6. H.-Q. Zhang, A.-P. Lin, Y. Sun, and Y.-M. Deng, *Acta Pharmacol. Sin.* **22** (12), 1121 (2001).
7. V. E. C. Ooi and F. Liu, *Curr. Med. Chem.* **7**, 715 (2000).

8. I. A. Shepetkin and M. T. Quinn, *Int. Immunopharmacol.* **6**, 317 (2006).
9. И. А. Сычев и В. М. Смирнов, *Вестн. Рос. гос. мед. ун-та* **6** (37), 85 (2004).
10. И. А. Сычев, Г. В. Порядин и В. М. Смирнов, *Бюл. эксперим. биологии и медицины* **5**, 530 (2006).
11. J. Shi, C. Cheng, H. Zhao, et al., *Int. J. Biol. Macromol.* **60**, 341 (2013).
12. H.-J. Kim, M.-H. Kim, Y.-Y. Byon, et al., *J. Veterinary Sci.* **9** (1), 39 (2008).
13. G. Shrestha, L. L. S. Clair, and K. L. O'Neil, *Rev. Phytother. Res.* (2014).
14. M. Jin, Q. Huang, K. Zhao, and P. Shang, *Int. J. Biol. Macromolecules* **54**, 16 (2013).
15. M. Jin, K. Zhao, Q. Huang, et al., *Carbohydr. Polymers* **89**, 713 (2012).
16. M. R. Ruff and G. E. Gilford, in *Lymphokines* (Academic Press, New York, 1981), pp. 235–241.
17. A. Waage and A. D. Aasen, *Immunol. Rev.* **127**, 221 (1992).
18. Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин и А. А. Ярилин, в сб. *Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы* (ГЭОТАР – Медиа, М., 2009), сс. 208–210.
19. M. Gadina, R. Bertini, M. Mengozzi, et al., *J. Exp. Med.* **173**, 1305 (1991).
20. N. Katakami, Y. Nakao, and T. Fujita, *Kobe J. Med. Sci.* **37**, 179 (1991).
21. Л. М. Рождественский, *Радиоэкология* **48** (2), 185 (2008).

Water-soluble Polysaccharide from *Heliantnus tuberosus* L.: Radioprotective, Colony-stimulation and Immunomodulation Activities

E.A. Generalov

Department of Physics, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory 1/2, Moscow, 119991 Russia

Experimental data on the presence of immunomodulatory activity, colony-stimulation and radioprotective properties of the polysaccharide from *Heliantnus tuberosus* L. with the molecular weight of 1–2 MDa, were obtained. The effect of different concentrations of the polysaccharide on production of TNF- α , IL-1 β and IL-6 was studied. The nature of radioprotective properties of the polysaccharide is discussed: stimulation of growth of colonies of hematopoietic stem cells, direct interaction with the products of ionizing radiation, and stimulation of cytokine cascades. The possibility of further usage and studying of the polysaccharide is discussed.

Key words: radioprotection, radioprotector, colony-stimulation, immunomodulation, cytokine activity, polysaccharide