



Безопасность противоопухолевого лекарственного средства на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины (доклинические исследования)

Е. В. Кулигина^{1,2} , Д. И. Ржевский³ , А. Н. Мурашев³ , Г. В. Кочнева⁴ ,
О. А. Коваль¹ , В. А. Рихтер¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины им. Д. Г. Кнорре Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН). 630090, Россия, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, д. 8

² Общество с ограниченной ответственностью «Онкостар». 630090, Россия, г. Новосибирск, Советский район, микрорайон Академгородок, ул. Инженерная, д. 28

³ Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра Российской Федерации Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова Российской академии наук (Филиал ГНЦ ИБХ РАН). 142290, Россия, Московская область, г. Пущино, проспект Науки, д. 6

⁴ Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор"» Роспотребнадзора. 630559, Россия, Новосибирская область, рабочий поселок Кольцово

✉ Контактное лицо: Кулигина Елена Владимировна. E-mail: kuligina@1bio.ru

Резюме

Введение. Виротерапия – один из наиболее перспективных и активно развивающихся подходов в противоопухолевой терапии. Разработанный коллективом авторов ИХБФМ СО РАН и ГНЦВБ «Вектор» противоопухолевый препарат на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины продемонстрировал высокую противоопухолевую эффективность в отношении опухолей человека и животных. Для дальнейшей фармацевтической разработки вирусного препарата необходимо оценить его общую токсичность и фармакологическую безопасность в доклинических исследованиях.

Цель. Оценка общей токсичности и фармакологической безопасности противоопухолевого препарата на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины.

Материалы и методы. Исследование нетоксичного дозового уровня лекарственного средства (ЛС) проводили на самках мышей ICR, крыс Wistar и кроликов калифорнийских при внутривенном (в/в) введении ЛС в дозах, максимально возможных для каждого вида животных. Острую токсичность оценивали на мышах ICR и крысах SD при однократном в/в или подкожном (п/к) введении препарата в двух дозах: 1×10^7 БОЕ (эквивалентная терапевтическая доза для человека) и максимально возможной для каждого вида животных. Исследования субхронической токсичности проводили на крысах SD и кроликах NZW (новозеландский белый кролик) при многократном п/к введении ЛС (4 инъекции с интервалом в 1 неделю) в дозах 1×10^7 БОЕ и 5×10^7 БОЕ. Фармакологическую безопасность ЛС оценивали на крысах SD в рамках исследований субхронической токсичности.

Результаты и обсуждение. При исследовании нетоксичного дозового уровня онколитического вируса VV-GMCSF-Lact с доказанной противоопухолевой активностью достигнуты дозы, превышающие однократную терапевтическую дозу для человека (1×10^7 БОЕ) в 7,5 раз (мыши), 30 раз (крысы) и 150 раз (кролики). Наблюдаемые клинические признаки свидетельствуют о достижении доз, близких к максимально переносимым. Исследование острой токсичности показало, что при п/к введении препарат безопасен в дозах, эквивалентных терапевтической, пятикратной (мыши) и двадцатикратной (крысы) терапевтической для человека; при в/в введении в обозначенных дозах ЛС способно вызывать ответную реакцию со стороны органов иммунной системы. В исследованиях субхронической токсичности установлено, что ЛС безопасно в дозах 1×10^7 БОЕ и 5×10^7 БОЕ и не оказывает токсического влияния на показатели двигательной активности, сердечно-сосудистой и дыхательной систем.

Заключение. Доклинические исследования общей токсичности и фармакологической безопасности ЛС с доказанной противоопухолевой активностью, разработанного на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины, показали, что ЛС безопасно в использованных дозах и может быть рекомендовано для клинических исследований.

© Кулигина Е. В., Ржевский Д. И., Мурашев А. Н., Кочнева Г. В., Коваль О. А., Рихтер В. А., 2026

© Издатель ООО «Центр Фармацевтической Аналитики», 2026

© Kuligina E. V., Rzhovsky D. I., Murashev A. N., Kochneva G. V., Koval O. A., Richter V. A., 2026

© Publisher LLC "Center of Pharmaceutical Analytics", 2026

Ключевые слова: доклинические исследования, виротерапия, вирус осповакцины, VV-GMCSF-Lact, безопасность, токсичность

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Е. В. Кулигина, О. А. Коваль, А. Н. Мурашев – идея и планирование эксперимента. Г. В. Кочнева – производство вирусного препарата. Д. И. Ржевский – проведение экспериментов и обработка данных. Е. В. Кулигина – подготовка рукописи. В. А. Рихтер – редактирование рукописи, общее руководство проектом.

Финансирование. Работа выполнена за счет средств государственного контракта от 22.11.2017 г. № 14.N08.11.0189 по теме «Доклинические исследования лекарственного средства, действующего на рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), для лечения рака молочной железы».

Для цитирования: Кулигина Е. В., Ржевский Д. И., Мурашев А. Н., Кочнева Г. В., Коваль О. А., Рихтер В. А. Безопасность противоопухолевого лекарственного средства на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины (доклинические исследования). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2026;15(3):256–270. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2369>

Поступила в редакцию: 11.05.2026

Поступила после рецензирования: 21.07.2026

Принята к публикации: 31.08.2026

Safety of an antitumor drug based on the recombinant vaccinia virus strain VV-GMCSF-Lact (preclinical studies)

Elena V. Kuligina^{1, 2} , Dmitry I. Rzhnevsky³ , Arkady N. Murashev³ ,
Galina V. Kochneva⁴ , Olga A. Koval¹ , Vladimir A. Richter¹ 

¹ Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (ICBFM SB RAS). 8, prospekt Akademika Lavrentieva, Novosibirsk, 630090, Russia

² Limited Liability Company "Oncostar". 28, Inzhenernaya str., Akademgorodok Microdistrict, Sovetsky District, Novosibirsk, 630090, Russia

³ Branch of the M. M. Shemyakin Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences. 6, prospekt Nauki, Pushchino, Moscow Region, 142290, Russia

⁴ State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector". Koltsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russia

✉ **Corresponding author:** Elena V. Kuligina. E-mail: kuligina@1bio.ru

Abstract

Introduction. Virotherapy is one of the most promising and rapidly developing approaches in antitumor therapy. An antitumor drug based on the recombinant vaccinia virus strain VV-GMCSF-Lact, developed by a team of researchers of the Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS and the State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", has demonstrated high antitumor efficacy against human and animal tumors. For further pharmaceutical development of VV-GMCSF-Lact evaluation of its systemic toxicity and pharmacological safety in preclinical studies is required.

Aim. Evaluation of the general toxicity and pharmacological safety of an antitumor drug based on the recombinant strain of vaccinia virus VV-GMCSF-Lact.

Materials and methods. A non-toxic dose level study in females of ICR mice, Wistar rats, and California rabbits after intravenous (iv) administration at the maximum possible doses for each animal species was conducted. Acute toxicity of the drug was evaluated in ICR mice and SD rats with a single iv or subcutaneous (sc) administration of the drug at two doses: 1×10^7 PFU (human equipotent therapeutic dose) and the maximal dose for each animal species. Subchronic toxicity was studied in SD rats and New Zealand White rabbits with multiple sc administration (4 injections at 1-week intervals) of the drug at doses of 1×10^7 PFU and 5×10^7 PFU. The pharmacological safety of the drug was assessed in SD rats as part of subchronic toxicity studies.

Results and discussion. When determining the non-toxic dose level of the oncolytic virus VV-GMCSF-Lact with proven antitumor activity, doses exceeding the single human therapeutic dose (1×10^7 PFU) by 7.5 times (mice), 30 times (rats), and 150 times (rabbits) were achieved. The observed clinical signs indicated that the achieved doses were close to the maximum tolerated. Acute toxicity studies showed that subcutaneous administration of the drug was safe at doses equivalent to the human therapeutic dose, as well as at 5-fold (mice) and 20-fold (rats) the human therapeutic dose. Intravenous administration at the indicated doses could induce a response from the organs of the immune system. Subchronic toxicity study showed that the drug was safe at doses of 1×10^7 PFU and 5×10^7 PFU and did not exert toxic effects on motor activity, the cardiovascular system, or the respiratory system.

Conclusion. Preclinical studies of the general toxicity and pharmacological safety of a drug with proven antitumor activity, developed on the basis of the recombinant VV-GMCSF-Lact strain of the vaccinia virus, showed that the drug is safe at the doses used and can be recommended for clinical trials.

Keywords: preclinical studies, anticancer drugs, virotherapy, recombinant vaccinia virus, VV-GMCSF-Lact, safety, toxicity

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Elena V. Kuligina, Olga A. Koval, Arkady N. Murashev – concept and planning of the experiment. Galina V. Kochneva – production of the viral preparation. Dmitry I. Rzhevsky – conducting the experiments and processing the data. Elena V. Kuligina – manuscript preparation. Vladimir A. Richter – editing the manuscript, overall project management.

Funding. This research was funded by the State Contract dated 22.11.2017 No. 14.N08.11.0189 «Preclinical studies of a drug acting on the epidermal growth factor receptor (EGFR) for the treatment of breast cancer».

For citation: Kuligina E. V., Rzhevsky D. I., Murashev A. N., Kochneva G. V., Koval O. A., Richter V. A. Safety of an antitumor drug based on the recombinant vaccinia virus strain VV-GMCSF-Lact (preclinical studies). *Drug development & registration*. 2026;15(3):256–270. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-3-2369>

Received: 11.05.2026

Revised: 21.07.2026

Accepted: 31.08.2026

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на внушительный арсенал противоопухолевых препаратов и методов терапии, продолжительность жизни пациентов с отдельными видами рака (рак легких, поджелудочной железы, печени, колоректальный рак, глиобластома) увеличивается незначительно. Эти виды опухолей часто выявляются на поздних стадиях, имеют агрессивное течение и демонстрируют высокую летальность [1], и создание новых подходов к противоопухолевой терапии остается актуальной биомедицинской задачей.

В настоящее время одним из наиболее перспективных и быстро развивающихся подходов к лечению злокачественных новообразований является виротерапия, или терапия онколитическими вирусами (ОВ), которые способны не только избирательно лизировать опухолевые клетки, но и индуцировать системный и адаптивный иммунный ответ организма [2]. Одним из неоспоримых преимуществ виротерапии является возможность применения онколитических вирусов в комбинации с любыми другими противоопухолевыми терапевтическими подходами, и множество лекарственных препаратов на основе онколитических вирусов находятся сегодня в доклинических и клинических исследованиях [3–5].

Природными онколитическими свойствами обладают многие вирусы, но вирус осповакцины (ВО) имеет ряд неоспоримых преимуществ и может являться платформой для разработки противоопухолевых лекарств. ВО имеет длительную историю успешного медицинского применения в качестве противоопухолевой вакцины, и его структурно-функциональная организация хорошо изучена. Кроме того, вирус может быть дополнительно аттенуирован для безопасности применения у иммуносупрессивных пациентов. Геном ВО способен нести несколько протяженных трансгенов, кодирующих белки, усиливающие его онколити-

ческие свойства. ВО реплицируется исключительно в цитоплазме инфицированной клетки, что исключает возможность интеграции вирусной ДНК в геном клетки и обеспечивает дополнительную безопасность использования ВО в терапии. Для проникновения в опухолевую клетку этот вирус использует несколько механизмов, в том числе прямое слияние мембран клетки и вирусной частицы, что значительно расширяет спектр опухолей для терапии [6].

Предлагаемый к исследованию вирусный препарат – рекомбинантный штамм VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины – сконструирован на основе штамма Л-ИБП, несущего делеции фрагментов двух генов вирулентности – вирусной тимидинкиназы (tk) и ростового фактора (virus growth factor, VGF), в районы которых встроены гены гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) человека и онкотоксического белка лактапина. VV-GMCSF-Lact показал высокую противоопухолевую эффективность в отношении опухолей человека и животных, обусловленную как онколитическими свойствами ВО, так и способностью продуктов трансгенов индуцировать противоопухолевый иммунный ответ и апоптоз опухолевых клеток [7–11]. Согласно данным проведенных исследований, VV-GMCSF-Lact является перспективной основой для разработки противоопухолевого лекарственного препарата [12–14].

Этап доклинических исследований являются обязательным при разработке инновационных лекарственных средств и предусматривает прежде всего оценку безопасности потенциального лекарства.

Данная работа посвящена оценке общей токсичности и фармакологической безопасности противоопухолевого лекарственного средства на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины. Объем проведенных исследований определялся техническим заданием государственного конт-

ракта от 22.11.2017 г. № 14.N08.11.0189 по теме «Доклинические исследования лекарственного средства, действующего на рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), для лечения рака молочной железы».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемый препарат: лекарственный препарат на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины.

Состав на 1 мл:

Активное вещество:

Штамм VV-GMCSF-Lact вируса (1–2) × 10⁷ БОЕ осповакцины

ИХБФМ СО РАН, Россия

Вспомогательные вещества:

Натрия хлорид 9 мг

(ГОСТ 4233-77, Евр. фармакопея)

Вода для инъекций до 1 мл

(ФС.2.2.0019.15)

Примечание. БОЕ – бляшкообразующие единицы.

Фармакотерапевтическая группа: противоопухолевые препараты.

Код АТХ: L01XX – прочие противоопухолевые препараты.

Препарат содержит рекомбинантный штамм VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины, полученный в культуре клеток почки африканской зеленой мартышки 4647 и продуцирующий секретируемый ГМ-КСФ человека и несекретируемый онкотоксический белок лактаптин [7, 8].

Для создания необходимых доз ЛС в исследованиях общей токсичности использовали вирусный концентрат с титром вируса 10⁹ БОЕ/мл, охарактеризованный в соответствии с проектом НД на субстанцию «Лекарственное средство на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины, субстанция раствор замороженный».

Животные

В исследованиях безопасности ЛС использовали следующие виды животных: мыши ICR (возраст 7–8 недель, вес 25–35 г), крысы Wistar (возраст 6–9 недель, вес 160–210 г), крысы *Sprague Dawley* (SD) (возраст 6–7 недель, вес 160–230 г), калифорнийский кролик (возраст 3–4 месяца, вес 2,8–3,1 кг), новозеландский белый кролик (NZW) (возраст 3–4 месяца, вес 2,8–3,1 кг) разведения НПП ФИБХ РАН «Питомник лабораторных животных «Пушино».

Животные содержались согласно стандартам, определенным Директивой 2010/63/EU по защите животных, используемых в научных целях. Все эксперименты с животными выполнены в соответствии с требованиями Всемирного общества защиты животных (WSPA) и Европейской конвенции по защите экспериментальных животных (Страсбург, 1986). Проце-

дуры с животными утверждены биоэтической комиссией ФИБХ РАН (протоколы № 649/18, 651/18, 657/18, 658/18) и выполнялись согласно утвержденному плану исследования и стандартным операционным процедурам (СОП) лаборатории биологических испытаний ФИБХ РАН, имеющей аккредитацию AAALAC (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International).

Исследование общей токсичности и фармакологической безопасности ЛС

Исследования общей токсичности и фармакологической безопасности ЛС проведены в лаборатории биологических испытаний ФИБХ РАН (г. Пушкино, Россия), которая имеет аккредитацию соответствия принципам GLP «Statement of OECD GLP Compliance» и включена Росаккредитацией в программу государственной инспекции на соответствие принципам GLP.

Дизайн исследований соответствует рекомендациям «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [15], а также руководства «OECD Guidelines for the testing of chemicals No 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents»¹.

Определение нетоксичного дозового уровня ЛС

При определении нетоксичного дозового уровня ЛС вводили самкам мышей ICR, крыс Wistar и кроликов калифорнийских: в хвостовую вену мышам и крысам и в ушную вену кроликам в дозах, максимально достижимых для каждого вида животных с учетом максимально возможного объема введения и концентрации активного вещества в препарате (таблица 1).

После введения ЛС за животными наблюдали в течение 14 дней, регистрировали массу тела и оценивали клинические признаки отклонений в состоянии здоровья. На 15-е сутки проводили некропсию животных, исследовали внешнее состояние тела, внутренних поверхностей и проходов, полости черепа, грудной, брюшной и тазовой полостей с находящимися в них органами и тканями, шею с органами и тканями, каркас и скелетно-мышечную систему.

Исследование острой токсичности ЛС

Исследование острой токсичности ЛС проводили на мышах ICR и крысах SD обоих полов (по 5 животных в каждой группе) с использованием трех серий ЛС. ЛС вводили животным п/к или в/в, однократно или дробно в течение суток в объеме 0,2 мл/живот-

¹ OECD. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals No. 407. Available at: https://www.oecd.org/en/publications/test-no-407-repeated-dose-28-day-oral-toxicity-study-in-rodents_9789264070684-en.html Accessed: 14.07.2026.

Таблица 1. Группы и дозы

Table 1. Groups and doses

№ группы Group No.	Вещество Substance	Кол-во животных Number of animals		Номера животных Animal IDs		Доза (мл/жив/ч) Dose (mL/animal/h)	Режим введения Administration regimen	Концентрация Concentration
		M	F	M	F			
1 (мыши) 1 (mice)	VV-GMCSF-Lact	–	5	–	1–5	0,25	6 раз, интервал 1 ч 6 times, 1 h interval	5,6 × 10 ⁷ БОЕ/мл 5,6 × 10 ⁷ PFU/mL
2 (крысы) 2 (rats)		–	5	–	6–10	1		5,6 × 10 ⁷ БОЕ/мл 5,6 × 10 ⁷ PFU/mL
3 (кролики) 3 (rabbits)		–	5	–	11–15	5		5,6 × 10 ⁷ БОЕ/мл 5,6 × 10 ⁷ PFU/mL

Примечание. М – самцы; F – самки.

Note. M – males; F – females.

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

ное или 1 мл/животное (мыши) и 0,2 мл/животное или 4 мл/животное (крысы) в дозах 1 × 10⁷ БОЕ (эквивалентная терапевтическая доза для человека) и 5 × 10⁷ БОЕ (в 5 раз превышающая терапевтическую дозу для человека, мыши) или 20 × 10⁷ БОЕ (в 20 раз превышающая терапевтическую дозу для человека, крысы). Контрольным животным вводили физраствор в объеме 1 мл/мышь или 4 мл/крыса.

В ходе исследования у животных регистрировали вес тела, потребление корма и проявление клинических признаков токсичности ЛС. На 15-й день животных подвергали эвтаназии и некропсии с взвешиванием органов и осмотром их макроповреждений.

Исследование субхронической токсичности ЛС

Исследование токсичности ЛС при многократном введении проводили на крысах SD (по 6 животных в каждой группе) и кроликах NZW (по 3 в каждой группе), самцах и самках, при п/к введении (как наиболее приближенном к рекомендуемому в клинике внутриопухолевому введению). ЛС вводили животным в межлопаточную область еженедельно (4 инъекции) в дозах 1 × 10⁷ БОЕ и 5 × 10⁷ БОЕ в объеме 1 мл/животное. Контрольным животным вводили физиологический раствор в том же объеме.

Исследование фармакологической безопасности ЛС

Фармакологическую безопасность ЛС оценивали в рамках исследования субхронической токсичности препарата у крыс. Набор использованных в исследовании функциональных тестов соответствовал техническому заданию государственного контракта от 22.11.2017 г. № 14.N08.11.0189.

Через сутки после первого и последнего введения ЛС у животных (по 6 самцов и 6 самок из каждой группы) исследовали функциональную активность ЦНС, сердечно-сосудистой и дыхательной систем по следующим показателям:

- **Центральная нервная система.** Локомоторную активность оценивали с помощью прибора Optovarimex и системы обсчета ATM3 Auto System (Columbus Instruments, США). За 3 мин нахождения животного на стандартной площадке актометра регистрировали время подвижности и неподвижности, пройденный путь, количество стоек.
- **Сердечно-сосудистая система.** Систолическое артериальное давление и частоту сердечных сокращений регистрировали неинвазивным методом при помощи хвостовой манжеты с помощью установки NIBP PowerLab (ADInstruments Pty Ltd., Австралия).
- **Дыхательная система.** Частоту и глубину дыхания регистрировали при помощи установки FE141 Spirometer на компьютерной системе PowerLab 8/35 (ADInstruments Pty Ltd., Австралия).

Статистика

При определении нетоксичного дозового уровня, оценке острой и субхронической токсичности для всех количественных данных была применена описательная статистика: подсчитаны средние значения и стандартное отклонение, которые вместе со значением N (количество вариантов в группе) были представлены в таблицах. Анализ межгрупповых различий изучаемых параметров при определении нетоксичного дозового уровня проводили с использованием непараметрического критерия Вилкоксона (Wilcoxon). Для установления межгрупповых различий изучаемых параметров при оценке острой и субхронической токсичности применяли непараметрический

критерий Краскела – Уоллиса (Kruskal – Wallis) с последующим тестом множественных сравнений. Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica 7.1. Различия определяли при 5%-м уровне значимости.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследуемый противоопухолевый вирусный препарат VV-GMCSF-Lact разработан на основе высокоаттенуированного штамма Л-ИВП: делеции фрагментов генов tk и vgf снижают вирулентность вируса более чем в 100 раз и обеспечивают дополнительную безопасность VV-GMCSF-Lact для онкологических пациентов, которые в большинстве случаев имеют иммунодефициты разной степени тяжести. При этом способность вируса реплицироваться в опухолевых клетках не снижается вследствие наличия в таких клетках большого количества предшественников синтеза белков и нуклеиновых кислот, а также их высокой митотической активности. Повышение адресности онколитической активности VV-GMCSF-Lact особенно актуально при внутривенном введении препарата, когда вирус способен «находить» отдаленные опухоли и метастазы, инфицировать их и эффективно реплицироваться, не повреждая здоровые органы и ткани.

Известно, что опухолевые клетки способны эффективно ускользать от иммунной системы хозяина, и введение генов иммуностимулирующих белков в геном ОВ широко используется в мировой практике. Одним из наиболее распространенных является ГМ-КСФ, ген которого был введен в геномы ряда ОВ, находящихся в клинических исследованиях, – аденовируса (Ad5/3-D24-GMCSF, ONCOS-102), вируса простого герпеса (HSV-2-GMCSF, OH2), вируса осповакцины (JX-594, Pexa Vec). В составе VV-GMCSF-Lact ген ГМ-КСФ экспрессируется под контролем природного промотора P7.5k BO и продуцирует секретируемую форму биологически активного ГМ-КСФ человека [7]. Экспрессия гена ГМ-КСФ стимулирует противоопухолевый иммунный ответ, усиливая презентацию раковых антигенов, высвобождающихся из лизированных вирусом опухолевых клеток, иммунной системе за счет активации и рекрутирования антигенпрезентирующих клеток и стимуляции Т-лимфоцитов [16–19].

Ген лактапина, кодирующий фрагмент каппа-казеина человека 23–134 а.о., экспрессируется под контролем синтетического промотора BO P7.5synth и продуцирует несекретируемый онкотоксический белок лактапин [2]. Экспрессия гена лактапина приводит к усилению онкотоксической активности вируса за счет индукции апоптоза опухолевых клеток. При этом процесс регрессии опухоли и увеличение времени жизни экспериментальных животных наблюдаются как в иммунодефицитных, так и в иммунокомпетентных моделях [2, 9]. Кроме того, показано, что вирус одинаково эффективно лизует чувствительные и устойчивые к химиотерапии опухоли и

может использоваться как в режиме монотерапии, так и в комбинации с химиотерапевтическими препаратами, а также в комбинации с любыми другими терапевтическими подходами [2].

Согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» токсикологические исследования инновационных лекарственных средств проводят на здоровых половозрелых животных нескольких видов. Общепринятыми видами животных являются мыши, крысы и кролики [15]. Известно, что штаммы вируса осповакцины, имеющие делеции в генах tk и vgf, эффективно тормозят развитие опухолей мышей, крыс и кроликов [20–23]. Таким образом, исследуемое ЛС не является строго видоспецифичным (эффективным только в отношении тканей человека), что предполагает использование мышей, крыс и кроликов в качестве релевантных животных в доклинических исследованиях.

Диапазон терапевтических доз ЛС, определенный в доклинических экспериментах на ксенографтах опухолей человека и на мышинных опухолевых моделях, составляет как в отношении опухолей человека, так и в отношении опухоли мыши 1×10^7 – 1×10^8 БОЕ (данные не опубликованы).

Определение нетоксичного дозового уровня

При определении нетоксичного дозового уровня были достигнуты дозы, превышающие однократную терапевтическую дозу для человека (1×10^7 БОЕ) в 7,5 раз (мыши), 30 раз (крысы) и 150 раз (кролики). При ежедневном осмотре гибели животных, тяжелого состояния и выраженных токсических клинических признаков выявлено не было. Основным клиническим признаком было посинение кончика хвоста у крыс и мышей сразу после введения. У кроликов отклонений в состоянии здоровья в процессе введения ЛС не наблюдалось. В последующие дни исследования отклонений в состоянии здоровья экспериментальных животных, связанных с действием ЛС, выявлено не было.

Введение ЛС вызвало снижение среднegrуппового прироста массы тела у мышей и кроликов (статистически значимое – на 7-й день исследования). У крыс наблюдалось снижение индивидуальных значений массы тела к 7-му дню у 2 животных из 5 (таблица 2).

При некропии в органах и тканях не было обнаружено макроскопических изменений, связанных с действием ЛС. Летальные дозы в ходе исследования достигнуты не были, и расчет среднелетальных доз не производился.

Таким образом, установлено, что введение ЛС вызвало кратковременное обратимое воздействие на общее состояние животных и прирост массы тела, без изменения морфологии внутренних органов. Наблюдаемые клинические признаки и снижение массы тела свидетельствуют о достижении доз, близких к максимально переносимым.

Таблица 2. Масса тела и прирост массы тела экспериментальных животных

Table 2. Body weight and body weight gain of experimental animals

Самки Females	Мыши Mice		Крысы Rats		Кролики Rabbits	
	Mean ± SD	n	Mean ± SD	n	Mean ± SD	n
День 1, масса тела, г Day 1, body weight, g	31,1 ± 1,3	5	165 ± 6	5	3012 ± 157	5
День 7, масса тела, г Day 7, body weight, g	29,7 ± 1,3	5	169 ± 12	5	2862 ± 193*	5
День 14, масса тела, г Day 14, body weight, g	31,0 ± 2,8	5	186 ± 12	5	2964 ± 152	5
День 7, прирост, % Day 7, weight gain, %	–4,3 ± 4,0	5	2,1 ± 5,1	5	–5,0 ± 2,0	5
День 14, прирост, % Day 7, weight gain, %	–0,3 ± 6,0	5	12,7 ± 4,0	5	–1,6 ± 1,3	5

Примечание. * $p < 0,05$ относительно 1-го дня на основании попарного теста Вилкоксона.

Note. * $p < 0.05$ compared with Day 1 based on the paired Wilcoxon test.

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

Острая токсичность лекарственного средства

При исследовании острой токсичности ЛС на мышах и крысах при п/к или в/в введении гибели животных, тяжелого состояния и выраженных токсических клинических признаков выявлено не было. Исключение составил один случай выраженной токсичности у крыс в группе, получавшей высокую дозу ЛС в/в: прогрессирующая потеря веса тела, нарушение походы, сгорбленность, пилоэрекция и вокализация.

В остальных группах введение ЛС не вызвало отклонений в приросте массы тела и потреблении корма. В ходе некропсии не было обнаружено патологических изменений внутренних органов, связанных с действием ЛС. При в/в ведении ЛС в высокой дозе и у мышей, и у крыс было выявлено статистически значимое увеличение относительной массы селезенки.

Таким образом, при исследовании острой токсичности ЛС при его однократном п/к введении мышам и крысам показано, что препарат безопасен в дозах, эквивалентных терапевтической, пятикратной (мышь) и двадцатикратной (крысы) терапевтической для человека. Введение ЛС в/в в дозе, в пять раз превышающей терапевтическую (мышь) и в 20 раз превышающей терапевтическую (крысы), способно вызывать ответную реакцию со стороны органов иммунной системы, что проявлялось в увеличении массы селезенки.

Субхроническая токсичность лекарственного средства

При изучении токсичности препарата при многократном введении крысам и кроликам ориентировались на предполагаемые дозы для применения в

клинической практике ($1 \times 10^7 - 1 \times 10^8$ БОЕ) без пересчета с использованием метаболического коэффициента, что допускается для тестирования вакцинных препаратов согласно рекомендациям ВОЗ по доклиническому исследованию вакцин¹.

ЛС вводили животным в межлопаточную область еженедельно (4 инъекции) в дозах 1×10^7 БОЕ и 5×10^7 БОЕ в объеме 1 мл/животное. Контрольным животным вводили физиологический раствор в том же объеме.

Крысы. Ни у самцов, ни у самок крыс, получавших ЛС, не было обнаружено статистически значимых изменений в параметрах гемостаза, биохимических показателях крови, в составе гемограммы и миелограммы и показателях диуреза по сравнению с животными контрольных групп. При некропсии макроскопических изменений внутренних органов, связанных с действием ЛС, а также статистически значимых межгрупповых различий показателей абсолютной и относительной массы органов выявлено не было.

Микроскопические отклонения от нормы, связанные с действием ЛС, были выявлены в коже и подлежащей соединительной ткани в области введения и подмышечных лимфоузлах, а также в селезенке и брыжеечных лимфоузлах. У всех животных, получавших ЛС в высокой дозе, в подлежащей под гиподермой рыхлой соединительной ткани отмечены признаки подострого воспаления – инфильтрация подлежащей соединительной ткани лимфоцитами, плазматическими и фибробластоподобными клетками (рисунок 1).

¹ WHO guidelines on nonclinical evaluation of vaccines. World Health Organization, WHO Technical Report Series, No. 927, 2005. Available at: <https://www.who.int/publications/m/item/annex1-nonclinical.p31-63> Accessed: 14.07.2026.

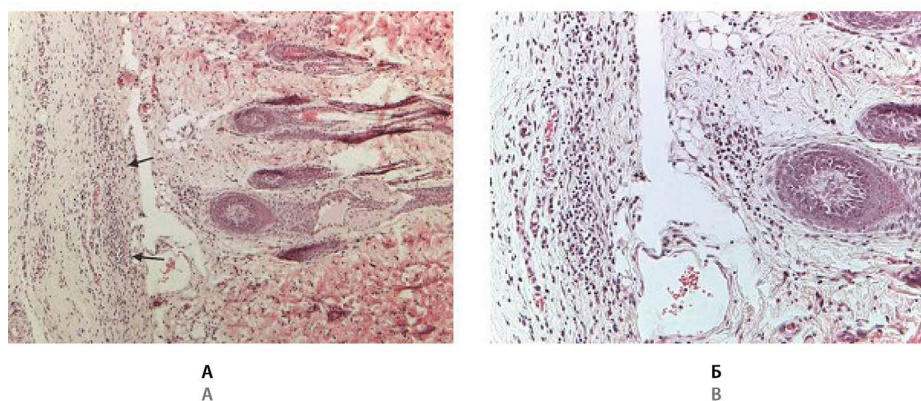


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 1. Фрагменты кожи Самца 14 из области введения после подкожного введения VV-GMCSF-Lact (4 инъекции 1 раз в неделю) в дозе 5×10^7 БОЕ. Диффузная инфильтрация лимфоцитами и плазматическими клетками подлежащей под гиподермой рыхлой соединительной ткани. Окраска гематоксилином и эозином, А – увеличение $\times 100$; Б – увеличение $\times 200$

Figure 1. Skin fragments of Male 14 from the area of subcutaneous administration of VV-GMCSF-Lact (4 injections once a week) at a dose of 5×10^7 PFU. Diffuse infiltration by lymphocytes and plasma cells of the loose connective tissue underlying the hypodermis. Hematoxylin and eosin staining, A – magnification $\times 100$; B – magnification $\times 200$

У некоторых самок область воспалительной реакции была расширена за счет мелкоочаговой инфильтрации лимфоцитами и плазматическими клетками гиподермы (рисунок 2).

У трех самцов и у трех самок, получавших ЛС в высокой дозе, в паракортикальной области подмышечных лимфоузлов наблюдалась умеренная или выраженная гиперплазия лимфоцитов, связанная, веро-

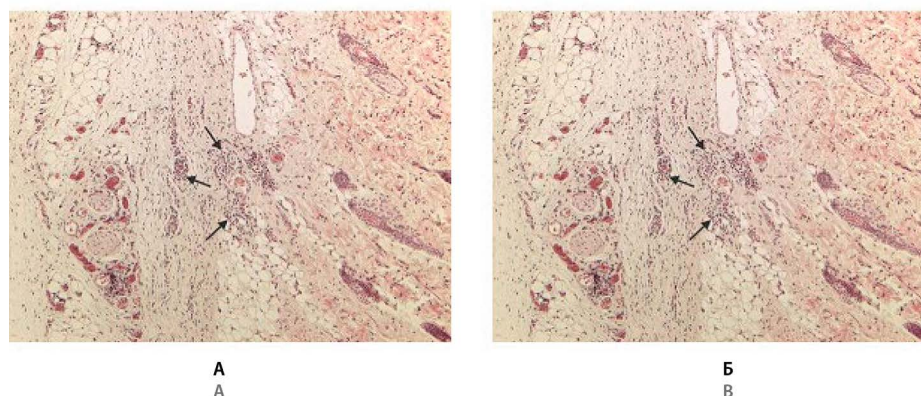


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 2. Фрагменты кожи Самок 49 и 53 из области подкожного введения VV-GMCSF-Lact (4 инъекции 1 раз в неделю) в дозе 5×10^7 БОЕ.

А – самка 49. В подлежащей под гиподермой рыхлой соединительной ткани периваскулярные инфильтраты лимфоцитов и плазматических клеток. Полнокровные сосуды. Б – самка 53. В подлежащей под гиподермой рыхлой соединительной ткани инкапсулированные очаги гранулематозного воспаления. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$

Figure 2. Skin fragments of females 49 and 53 from the area of subcutaneous administration of VV-GMCSF-Lact (4 injections once a week) at a dose of 5×10^7 PFU.

А – female 49. In the loose connective tissue underlying hypodermis, perivascular infiltrates of lymphocytes and plasma cells. Vascular congestion. Б – female 53. In the loose connective tissue underlying the hypodermis, encapsulated foci of granulomatous inflammation. Hematoxylin and eosin staining, magnification $\times 100$

ятно, с иммунным ответом со стороны регионарных лимфоузлов (рисунок 3).

На основании результатов микроскопического исследования органов можно заключить, что ЛС в дозе 5×10^7 БОЕ после многократного п/к введения не оказало общетоксического действия, но способствовало развитию подострой воспалительной реакции в подлежащей под гиподермой рыхлой соединительной ткани, что свидетельствует о местнораздражающем действии ЛС. Применение ЛС также способствовало стимуляции иммунного ответа, что проявилось в виде гиперплазии лимфоцитов в паракортикальной области регионарных подмышечных лимфоузлов.

Кролики. При исследовании субхронической токсичности на кроликах NZW при многократном п/к введении (4 п/к инъекции с интервалом в 1 неделю) ЛС не было отмечено клинических признаков отклонения в состоянии здоровья животных. Через сутки после первого введения препарата у животных, получивших VV-GMCSF-Lact в дозе 5×10^7 БОЕ, наблюдалась абсолютная и относительная лимфопения, относительный гранулоцитоз и снижение абсолютного количества «средних клеток» по сравнению с контрольными животными (таблица 3). Изменения носили дозозависимый характер: в группах, получивших ЛС в дозе 1×10^7 БОЕ, наблюдалась аналогичная тенденция к изменению показателей гемограммы.

На 29-й и 43-й день исследования у животных обоего пола, получавших VV-GMCSF-Lact в двух дозах, в составе гемограммы не выявлено статистически значимых отклонений относительно контрольного уровня.

В ходе исследования установлено отсутствие влияния ЛС в исследуемых дозах на общее состояние животных, показатели массы тела, потребления корма, биохимии сыворотки крови и морфологию внутренних органов. При введении дозы $5,6 \times 10^7$ БОЕ были достигнуты некоторые обратимые токсические эффекты, которые не могут считаться клинически значимыми, что говорит о том, что пятикратная терапевтическая доза может считаться NOAEL (No-observed-adverse-effect level) – максимальной дозой, не вызывающей побочных эффектов.

Фармакологическая безопасность

Фармакологическую безопасность ЛС оценивали на крысах в рамках исследований субхронической токсичности. Через сутки после первого и последнего введений ЛС были проведены исследования состояния функциональной активности ЦНС, сердечно-сосудистой и дыхательной систем по следующим показателям: локомоторной активности, систолическому артериальному давлению и частоте сердечных сокращений, частоте и глубине дыхания.

Ни по одному из изучаемых параметров не было зарегистрировано статистически значимых отличий от контрольных значений у животных, за исключением снижения частоты сердечных сокращений в группе самцов, получавших препарат в высокой дозе, на 2-й день исследования (таблица 4). Однако данное изменение ЧСС было в пределах физиологической нормы и не подтверждалось аналогичным изменением показателя на 22-й день.

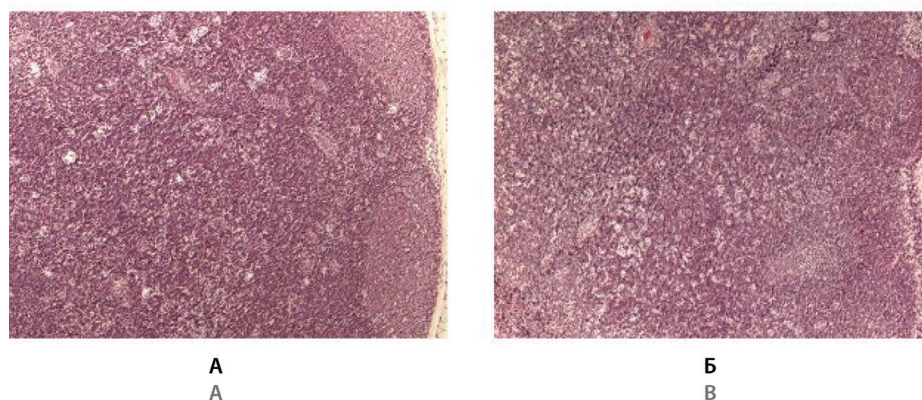


Рисунок предоставлен авторами
The figure was provided by the authors

Рисунок 3. Паракортикальная гиперплазия лимфоцитов подмышечных лимфоузлов после подкожного введения VV-GMCSF-Lact (4 инъекции 1 раз в неделю, доза 5×10^7 БОЕ).

А – фрагмент ткани лимфатического узла Самца 14; Б – фрагмент ткани лимфатического узла Самки 53. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$

Figure 3. Paracortical hyperplasia of lymphocytes in axillary lymph nodes after subcutaneous administration of VV-GMCSF-Lact (4 injections once a week, dose 5×10^7 PFU).

А – lymph node tissue fragment of Male 14; Б – lymph node tissue fragment of Female 53. Hematoxylin and eosin staining, magnification $\times 100$

Таблица 3. Показатели гемограммы, 2-й день

Table 3. Hemogram parameters, day 2

День 2 Day 2	Носитель (0,9%-й NaCl) Vehicle (0.9% NaCl)		VV-GMCSF-Lact (1×10 ⁷ БОЕ/мл) VV-GMCSF-Lact (1×10 ⁷ PFU/mL)		VV-GMCSF-Lact (5 × 10 ⁷ БОЕ/мл) VV-GMCSF-Lact (5 × 10 ⁷ PFU/mL)	
Самцы Males	Mean ± SD	n	Mean ± SD	n	Mean ± SD	n
Количество лейкоцитов (WBC), 10 ⁹ /л White blood cell count (WBC), ×10 ⁹ /L	9,5 ± 1,6	6	8,0 ± 2,6	5	6,8 ± 2,0	6
Лимфоциты (LYM #), 10 ⁹ /л Lymphocytes (LYM #), ×10 ⁹ /L	6,5 ± 1,7	6	5,2 ± 2,3	5	3,6 ± 1,0*	6
«Средние» клетки (MON #), 10 ⁹ /л Middle cells (MON #), ×10 ⁹ /L	0,7 ± 0,2	6	0,6 ± 0,2	5	0,5 ± 0,1*	6
Гранулоциты (GRA #), 10 ⁹ /л Granulocytes (GRA #), ×10 ⁹ /L	2,3 ± 0,4	6	2,2 ± 0,5	5	2,7 ± 1,0	6
Лимфоциты (LYM %), % Lymphocytes (LYM %), %	67,8 ± 7,8	6	63,7 ± 8,3	5	54,0 ± 5,5*	6
«Средние» клетки (MON %), % Middle cells (MON %), %	7,8 ± 2,3	6	7,3 ± 1,2	5	6,7 ± 0,8	6
Гранулоциты (GRA %), % Granulocytes (GRA %), %	24,4 ± 6,3	6	29,0 ± 8,0	5	39,3 ± 5,4*	6
Количество эритроцитов (RBC), 10 ¹² /л Red blood cell count (RBC), ×10 ¹² /L	6,28 ± 0,65	6	6,26 ± 0,50	5	6,18 ± 0,33	6
Уровень гемоглобина (Hb), г/л Hemoglobin (Hb), g/L	124 ± 11	6	123 ± 9	5	122 ± 9	6
Гематокрит (HCT), л/л Hematocrit (HCT), L/L	0,399 ± 0,032	6	0,394 ± 0,024	5	0,388 ± 0,025	6
Средний объем эритроцита (MCV), фл Mean corpuscular volume (MCV), fL	63,7 ± 2,3	6	62,9 ± 2,2	5	62,9 ± 3,2	6
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), пг Mean corpuscular hemoglobin (MCH), pg	19,8 ± 0,7	6	19,6 ± 0,4	5	19,8 ± 1,1	6
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), г/л Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), g/L	311 ± 5	6	312 ± 9	5	315 ± 6	6
Широта распределения эритроцитов по объему – коэффициент вариации (RDW), % Red blood cell distribution width – coefficient of variation (RDW-CV), %	14,5 ± 0,7	6	14,0 ± 0,8	5	14,0 ± 0,8	6
Широта распределения эритроцитов по объему – стандартное отклонение (RDW-SD), фл Red blood cell distribution width – standard deviation (RDW-SD), fL	36,2 ± 1,1	6	34,7 ± 1,2	5	35,6 ± 1,4	6
Самки Females	Mean ± SD	n	Mean ± SD	n	Mean ± SD	n
Количество лейкоцитов (WBC), 10 ⁹ /л White blood cell count (WBC), ×10 ⁹ /L	9,2 ± 1,5	6	8,3 ± 2,7	5	6,2 ± 1,9*	6
Лимфоциты (LYM #), 10 ⁹ /л Lymphocytes (LYM #), ×10 ⁹ /L	6,5 ± 1,2	6	5,2 ± 2,0	5	3,2 ± 0,9*	6
«Средние» клетки (MON #), 10 ⁹ /л Middle cells (MON #), ×10 ⁹ /L	0,7 ± 0,2	6	0,6 ± 0,3	5	0,4 ± 0,2*	6
Гранулоциты (GRA #), 10 ⁹ /л Granulocytes (GRA #), ×10 ⁹ /L	2,0 ± 0,4	6	2,4 ± 0,7	5	2,6 ± 1,1	6
Лимфоциты (LYM %), % Lymphocytes (LYM %), %	70,1 ± 4,0	6	63,1 ± 5,4	5	53,1 ± 7,2*	6
«Средние» клетки (MON %), % Middle cells (MON %), %	7,8 ± 1,2	6	7,3 ± 1,5	5	5,8 ± 1,1	6

День 2 Day 2	Носитель (0,9%-й NaCl) Vehicle (0.9% NaCl)		VV-GMCSF-Lact (1×10 ⁷ БОЕ/мл) VV-GMCSF-Lact (1×10 ⁷ PFU/mL)		VV-GMCSF-Lact (5 × 10 ⁷ БОЕ/мл) VV-GMCSF-Lact (5 × 10 ⁷ PFU/mL)	
Гранулоциты (GRA %), % Granulocytes (GRA %), %	22,1 ± 4,4	6	29,6 ± 5,8	5	41,2 ± 7,4*	6
Количество эритроцитов (RBC), 10 ¹² /л Red blood cell count (RBC), ×10 ¹² /L	6,14 ± 0,67	6	6,28 ± 0,53	5	6,03 ± 0,44	6
Уровень гемоглобина (Hb), г/л Hemoglobin (Hb), g/L	123 ± 9	6	126 ± 10	5	123 ± 9	6
Гематокрит (HCT), л/л Hematocrit (HCT), L/L	0,387 ± 0,030	6	0,399 ± 0,030	5	0,383 ± 0,029	6
Средний объем эритроцита (MCV), фл Mean corpuscular volume (MCV), fL	63,2 ± 2,9	6	63,5 ± 1,0	5	63,6 ± 2,6	6
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), пг Mean corpuscular hemoglobin (MCH), pg	20,1 ± 0,9	6	20,1 ± 0,3	5	20,3 ± 0,7	6
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), г/л Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), g/L	319 ± 7	6	316 ± 2	5	320 ± 3	6
Широта распределения эритроцитов по объему – коэффициент вариации (RDW), % Red blood cell distribution width – coefficient of variation (RDW-CV), %	14,8 ± 0,7	6	14,4 ± 0,8	5	14,5 ± 0,5	6
Широта распределения эритроцитов по объему – стандартное отклонение (RDW-SD), фл Red blood cell distribution width – standard deviation (RDW-SD), fL	37,3 ± 2,0	6	35,8 ± 1,4	5	35,9 ± 1,4	6

Примечание. * $p < 0,05$ на основании Краскела – Уоллиса ANOVA относительно группы, получавшей носитель.

Note. * $p < 0.05$ based on the Kruskal – Wallis ANOVA compared with the vehicle group.

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

В результате исследования установлено, что исследуемый препарат не оказывает токсического влияния на показатели двигательной активности, сердечно-сосудистой и дыхательной систем.

В таблице 5 суммированы токсические эффекты, возникающие у крыс и кроликов при многократном п/к введении ЛС.

Местнораздражающее действие VV-GMCSF-Lact, его влияние на органы иммунной системы и некоторые обратимые гематологические эффекты – ожидаемые реакции организма на введение вирусного препарата. Вместе с тем отсутствие токсических эффектов ЛС в отношении жизненно важных органов и систем экспериментальных животных подтверждает перспективность использования VV-GMCSF-Lact для терапии опухолей у человека.

Результаты исследования общей токсичности и фармакологической безопасности VV-GMCSF-Lact согласуются с результатами доклинических исследований других противоопухолевых лекарственных

средств, разработанных на основе ОВ, в том числе на основе ВО [24, 25]. Более того, на портале¹ зарегистрировано более 140 клинических исследований, в которых рекомбинантные штаммы ВО применяют для терапии солидных опухолей. Такое пристальное внимание исследователей к этому вирусу как к платформе для разработки лекарств позволяет надеяться на скорое появление целого ряда противоопухолевых препаратов для терапии широкого спектра солидных опухолей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на неоспоримые успехи в терапии злокачественных новообразований, проблема профилактики и терапии опухолей остается актуальной биомедицинской проблемой во всем мире. Наиболее перспективными терапевтическими подходами на се-

¹ ClinicalTrials.gov. Available at: <https://clinicaltrials.gov/>
Accessed: 14.07.2026.

Таблица 4. Артериальное давление (АД) и частота сердечных сокращений (ЧСС)

Table 4. Blood pressure (BP) and heart rate (HR)

	Носитель (0,9%-й NaCl) Vehicle (0.9 % NaCl)	VV-GMCSF-Lact (1 × 10 ⁷ БОЕ/мл) VV-GMCSF-Lact (1 × 10 ⁷ PFU/mL)	VV-GMCSF-Lact (5 × 10 ⁷ БОЕ/мл) VV-GMCSF-Lact (5 × 10 ⁷ PFU/mL)
Самцы Males	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD
День 2 Day 2	(n = 6)	(n = 6)	(n = 6)
ЧСС, уд/мин HR, beats/min	464 ± 21	439 ± 35	398 ± 37*
АД, мм рт. ст. BP, mmHg	120 ± 12	112 ± 14	115 ± 12
День 22 Day 22	(n = 6)	(n = 6)	(n = 6)
ЧСС, уд/мин HR, beats/min	411 ± 13	426 ± 38	398 ± 29
АД, мм рт. ст. BP, mmHg	145 ± 18	142 ± 7	147 ± 10
Самки Females	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD
День 2 Day 2	(n = 6)	(n = 6)	(n = 6)
ЧСС, уд/мин HR, beats/min	426 ± 23	443 ± 38	429 ± 28
АД, мм рт. ст. BP, mmHg	106 ± 13	120 ± 12	121 ± 14
День 22 Day 22	(n = 6)	(n = 6)	(n = 6)
ЧСС, уд/мин HR, beats/min	408 ± 33	410 ± 35	396 ± 24
АД, мм рт. ст. BP, mmHg	131 ± 10	129 ± 7	135 ± 11

Примечания. Mean ± SD – среднее ± стандартное отклонение; *n* – количество животных в группе; БОЕ – бляшкообразующие единицы; ЧСС – частота сердечных сокращений; АД – артериальное давление.

* *p* < 0,05 на основании критерия Краскела – Уоллиса относительно группы, получавшей носитель.

Note. Mean ± SD – mean ± standard deviation; *n* – number of animals per group; PFU – plaque-forming units; HR – heart rate; BP – blood pressure.

* *p* < 0.05 based on the Kruskal – Wallis test compared with the vehicle group.

Таблица предоставлена авторами

The table was provided by the authors

годняшний день считают таргетную терапию и иммунотерапию. Виротерапия – один из активно развивающихся иммунотерапевтических подходов, имеет ряд неоспоримых преимуществ, основными из которых являются низкая общая токсичность вирусных препаратов при высокой онколитической активности. Введение в геном онколитических вирусов трансгенов с заданными свойствами может обеспечить значительное повышение терапевтической эффективности препаратов этого класса.

В данной работе представлены результаты доклинических исследований безопасности вирусного противоопухолевого препарата на основе рекомбинантного штамма VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины, противоопухолевая эффективность которого была доказана на широкой панели опухолей человека и животных. Установлено, что лекарственный препарат на основе VV-GMCSF-Lact хорошо переносится экспериментальными животными, безопасен в исследованных дозах как при однократном, так и при

Таблица 5. Токсические эффекты при многократном введении препарата (4 инъекции с интервалом в 1 неделю)
Table 5. Toxic effects following multiple administration of the drug (4 injections at weekly intervals)

Вид животных Animal species	Доза Dose	Токсические эффекты Toxic effects	Клиническая значимость Clinical significance	Значение NOAEL NOAEL value
Крысы Rats	1 × 10 ⁷ БОЕ 1 × 10 ⁷ PFU	Гематология: снижение доли палочкоядерных нейтрофилов (день 29) Hematology: decreased band neutrophils (day 29)	Нет No	5 × 10 ⁷ БОЕ 5 × 10 ⁷ PFU
	5 × 10 ⁷ БОЕ 5 × 10 ⁷ PFU	Гематология: снижение МСНС (день 43). Гистопатология (день 29): кожа в области введения – воспалительная реакция, подмышечные лимфоузлы – гиперплазия лимфоцитов (иммунный ответ). Снижение ЧСС (день 2) Hematology: decreased MCHC (day 43). Histopathology (day 29): skin at the injection site – inflammatory response, axillary lymph nodes – lymphocyte hyperplasia (immune response). Decreased heart rate (day 2)	Нет No	
Кролики Rabbits	1 × 10 ⁷ БОЕ 1 × 10 ⁷ PFU	Нет No	–	5 × 10 ⁷ БОЕ 5 × 10 ⁷ PFU
	5 × 10 ⁷ БОЕ 5 × 10 ⁷ PFU	Гематология (день 2): лимфопения, моноцитопения, гранулоцитоз Hematology (day 2): lymphopenia, monocytopenia, granulocytosis	Нет No	

Таблица предоставлена авторами
The table was provided by the authors

многократном введении и рекомендуется для клинических испытаний фазы I (безопасность и переносимость лекарственного препарата) у онкологических пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каприн А. Д., Старинский В. В., Шахзадова А. О., ред. Состояние онкологической помощи населению России в 2024 году. М.: ООО «Компания ПолиграфМастер»; 2025. 275 с.

2. Ma R., Li Z., Chiocca E. A., Caligiuri M. A., Yu J. The emerging field of oncolytic virus-based cancer immunotherapy. *Trends in Cancer*. 2023.9(2):122–139. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2022.10.003>

3. Alwithenani A., Hengswat P., Chiocca E. A. Oncolytic viruses as cancer therapeutics: From mechanistic insights to clinical translation. *Molecular Therapy*. 2025;33(5):2217–2228. <http://doi.org/10.1016/j.ymthe.2025.03.035>

4. Xiao D., Zhang H., Liu Y., Li Y., Li G., Ning Y. Oncolytic viruses: advanced strategies in cancer therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2026;11(1):45. <http://doi.org/10.1038/s41392-025-02343-3>

5. Vasileva N., Ageenko A., Byvakina A., Sen'kova A., Kochneva G., Mishinov S., Richter V., Kuligina E. The Recombinant Oncolytic Virus VV-GMCSF-Lact and Chemotherapy Drugs against Human Glioma. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(8):4244. <https://doi.org/10.3390/ijms25084244>

6. Stawowczyk M., Ye Y., Chen N. G. Vaccinia Virus—A Swiss Army Knife Against Cancer. *Cancers*. 2025;17(14):2324. <http://doi.org/10.3390/cancers17142324>

7. Kochneva G., Sivolobova G., Tkacheva A., Grazhdantseva A., Troitskaya O., Nushtaeva A., Tkachenko A., Kuligina E., Richter V., Koval O. Engineering of double recombinant vaccinia virus with enhanced oncolytic potential for solid tumor virotherapy. *Oncotarget*. 2016;7(45):74171–74188. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12367>

8. Кулигина Е. В., Коваль О. А., Рихтер В. А., Кочнева Г. В., Сиволобова Г. Ф., Гражданцева А. А., Трошкова Г. П. Противоопухолевое средство на основе рекомбинантного штамма вируса осповакцины и способ его получения. Патент РФ на изобретение № RU 2730657 C1. 24.08.2020. Доступно по <https://patents.google.com/patent/RU2730657C1/> Ссылка активна на 13.07.2026.

9. Кочнева Г. В., Ткачева А. В., Сиволобова Г. Ф., Гражданцева А. А., Юнусова А. Ю., Рябчикова Е. И., Кулигина Е. В., Коваль О. А., Рихтер В. А. Противоопухолевый потенциал рекомбинантного штамма вируса осповакцины, продуцирующего секретируемый химерный белок, состоящий из гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора человека и онкотоксического белка лактапина. *Биофармацевтический журнал*. 2017;9(1):11–21.

10. Кочнева Г. В., Гражданцева А. А., Сиволобова Г. Ф., Ткачева А. В., Швалов А. Н., Юнусова А. Ю., Рябчикова Е. И., Нетесов С. В. Модель искусственного метастазирования эпидермоидной карциномы человека A431 на мышах линии nude для исследования онколитической активности вируса осповакцины. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2015;19(4):480–486. <https://doi.org/10.18699/VJ15.064>

11. Koval O., Kochneva G., Tkachenko A., Troitskaya O., Sivolobova G., Grazhdantseva A., Nushtaeva A., Kuligina E., Richter V. Recombinant vaccinia viruses coding transgenes of apoptosis-inducing proteins enhance apoptosis but not immunogenicity of infected tumor cells. *Bio-Med Research International*. 2017;(30):3620510. <https://doi.org/10.1155/2017/3620510>
12. Vasileva N., Ageenko A., Dmitrieva M., Nushtaeva A., Mishinov S., Kochneva G., Richter V., Kuligina E. Double Recombinant Vaccinia Virus: A Candidate Drug against Human Glioblastoma. *Life*. 2021;11(10):1084. <https://doi.org/10.3390/life11101084>
13. Васильева Н. С., Агеевко А. Б., Рихтер В. А., Кулигина Е. В. Сигнальные пути, определяющие эффективность терапии глиобластомы вирусом осповакцины. *Acta Naturae*. 2022;14(53):62–70.
14. Ageenko A., Vasileva N., Yusubalieva G., Sen'kova A., Romashchenko A., Gubskiy I., Zabozaev F., Zavyalov E., Dymova M., Richter V., Kuligina E. Efficacy of Oncolytic Virus VV-GMCSF-Lact Against Immunocompetent Glioma. *Cells*. 2025;14(20):1619. <https://doi.org/10.3390/cells14201619>
15. Миронов А. Н., Меркулов В. А., Бунятян Н. Д., Бондарев В. П., и др., ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические лекарственные препараты). М.: Гриф и К; 2012. 532 с.
16. Kemp V., van den Wollenberg D. J. M., Camps M. G. M., van Hall T., Kinderman P., Pronk-van Montfoort N., Hoebe R. C. Arming oncolytic reovirus with GM-CSF gene to enhance immunity. *Cancer Gene Therapy*. 2019;26:268–281. <https://doi.org/10.1038/s41417-018-0063-9>
17. Shi X., Sun K., Li L., Xian J., Wang P., Jia, F., Xu F. Oncolytic Activity of Sindbis Virus with the Help of GM-CSF in Hepatocellular Carcinoma. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(13):7195. <https://doi.org/10.3390/ijms25137195>
18. Cao H., Ye J., Li X., Si Y., Jin X., Xiong S., Ji T., Ding Y., Ma D., Gao Q., Wang X., Dai Z., Li F. A novel GM-CSF-encoding oncolytic adenovirus induces profound autophagy and promotes viral replication to enhance anti-tumor efficacy. *Cancer Gene Therapy*. 2025;32:1276–1291. <https://doi.org/10.1038/s41417-025-00962-0>
19. Ageenko A. B., Vasileva N. S., Chesnokova A. S., Semenov D. V., Byvakina A. A., Dymova M. A., Sen'kova A. V., Nushtaeva A. A., Leonteva A. A., Savinovskaya Yu. I., Kochneva G. V., Richter V. A., Kuligina E. V. Oncolytic Virus VV-GMCSF-Lact and Human GM-CSF Against GL261 Glioma in Immunocompetent Mice. *Pharmaceuticals*. 2026;19(3):434. <https://doi.org/10.3390/ph19030434>
20. Thorne S. H., Hwang T. H. H., O'Gorman W. E., Bartlett D. L., Sei S., Kanji F., Brown C., Werier J., Cho J. H., Lee D. E., Wang Y., Bell J., Kirn D. H. Rational strain selection and engineering creates a broad-spectrum, systemically effective oncolytic poxvirus, JX-963. *Journal of Clinical Investigation*. 2007;117(11):3350–3358. <https://doi.org/10.1172/JCI32727>
21. Kim J. H., Oh J. Y., Park B. H., Lee D. E., Kim J. S., Park H. E., Roh M. S., Je J. E., Yoon J. H., Thorne S. H., Kirn D., Hwang T. H. Systemic armed oncolytic and immunologic therapy for cancer with JX-594, a targeted poxvirus expressing GM-CSF. *Molecular Therapy*. 2006;14(3):361–370. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2006.05.008>
22. Pencavel T. D., Wilkinson M. J., Mansfield D. C., Khan A. A., Seth R., Karapanagiotou E. M., Roulstone V., Aguilar R. J., Chen N. G., Szalay A. A., Hayes A. J., Harrington K. J. Isolated limb perfusion with melphalan, tumour necrosis factor-alpha and oncolytic vaccinia virus improves tumour targeting and prolongs survival in a rat model of advanced extremity sarcoma. *International Journal of Cancer*. 2015;136(4):965–976. <https://doi.org/10.1002/ijc.29059>
23. Haddad D. Genetically Engineered Vaccinia Viruses As Agents for Cancer Treatment, Imaging, and Transgene Delivery. *Frontiers in Oncology*. 2017;7:96. <https://doi.org/10.3389/fonc.2017.00096>
24. Rasa A., Alberts P. Oncolytic virus preclinical toxicology studies. *Journal of Applied Toxicology*. 2023;43(5):620–648. <https://doi.org/10.1002/jat.4408>
25. Li M., Zhang M., Ye Q., Liu Y., Qian W. Preclinical and clinical trials of oncolytic vaccinia virus in cancer immunotherapy: a comprehensive review. *Cancer Biology & Medicine*. 2023;20(9):646–661. <https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2023.0202>

REFERENCES

1. Kaprin A. D., Starinsky V. V., Shakhzadova A. O., editors. The state of oncological care for the population of Russia in 2024. Moscow: LLC "PoligrafMaster Company"; 2025. 275 p. (In Russ.)
2. Ma R., Li Z., Chiocca E. A., Caligiuri M. A., Yu J. The emerging field of oncolytic virus-based cancer immunotherapy. *Trends in Cancer*. 2023;9(2):122–139. <https://doi.org/10.1016/j.trecan.2022.10.003>
3. Alwithenani A., Hengswat P., Chiocca E. A. Oncolytic viruses as cancer therapeutics: From mechanistic insights to clinical translation. *Molecular Therapy*. 2025;33(5):2217–2228. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2025.03.035>
4. Xiao D., Zhang H., Liu Y., Li Y., Li G., Ning Y. Oncolytic viruses: advanced strategies in cancer therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2026;11(1):45. <https://doi.org/10.1038/s41392-025-02343-3>
5. Vasileva N., Ageenko A., Byvakina A., Sen'kova A., Kochneva G., Mishinov S., Richter V., Kuligina E. The Recombinant Oncolytic Virus VV-GMCSF-Lact and Chemotherapy Drugs against Human Glioma. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(8):4244. <https://doi.org/10.3390/ijms25084244>
6. Stawowczyk M., Ye Y., Chen N. G. Vaccinia Virus—A Swiss Army Knife Against Cancer. *Cancers*. 2025;17(14):2324. <https://doi.org/10.3390/cancers17142324>
7. Kochneva G., Sivolobova G., Tkacheva A., Grazhdantseva A., Troitskaya O., Nushtaeva A., Tkachenko A., Kuligina E., Richter V., Koval O. Engineering of double recombinant vaccinia virus with enhanced oncolytic potential for solid tumor virotherapy. *Oncotarget*. 2016;7(45):74171–74188. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12367>
8. Kuligina E. V., Koval O. A., Richter V. A., Kochneva G. V., Sivolobova G. F., Grazhdantseva A. A., Troshkova G. P. Antineoplastic agent based on recombinant vaccinia virus strain contains recombinant strain VV-GMCSF-Lact and method of its production. Patent RUS № 2730657 C1. 24.08.2020. Available at: <https://patents.google.com/patent/RU2730657C1/> Accessed: 13.07.2026. (In Russ.)
9. Kochneva G. V., Tkacheva A. V., Sivolobova G. F., Grazhdantseva A. A., Unusova A. Yu., Ryabchikova E. I., Kuligina E. V., Koval O. A., Richter V. A. Antitumor potential of recombi-

- nant vaccinia virus strain, which produces a secreted chimera protein, composed of human GM-CSF and onco-toxic peptide lactaptin. *Journal of Biopharmaceuticals*. 2017;9(1):11–21. (In Russ.)
10. Kochneva G.V., Grazhdantseva A.A., Sivolobova G.F., Tkacheva A.V., Shvalov A.N., Unusova A.Yu., Ryabchikova E.I., Netesov S.V. A model of the artificial metastasis of human epidermoid carcinoma A431 in nude mice for examination of the oncolytic activity of vaccinia virus. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2015;19(4):480–486. (In Russ.) <https://doi.org/10.18699/VJ15.064>
 11. Koval O., Kochneva G., Tkachenko A., Troitskaya O., Sivolobova G., Grazhdantseva A., Nushtaeva A., Kuligina E., Richter V. Recombinant vaccinia viruses coding transgenes of apoptosis-inducing proteins enhance apoptosis but not immunogenicity of infected tumor cells. *Bio-Med Research International*. 2017;(30):3620510. <https://doi.org/10.1155/2017/3620510>
 12. Vasileva N., Ageenko A., Dmitrieva M., Nushtaeva A., Mishinov S., Kochneva G., Richter V., Kuligina E. Double Recombinant Vaccinia Virus: A Candidate Drug against Human Glioblastoma. *Life*. 2021;11(10):1084. <https://doi.org/10.3390/life11101084>
 13. Vasilyeva N.S., Ageenko A.B., Richter V.A., Kuligina E.V. Signaling pathways determining the efficacy of vaccinia virus therapy for glioblastoma. *Acta Naturae*. 2022;14(53):62–70. (In Russ.)
 14. Ageenko A., Vasileva N., Yusubalieva G., Sen'kova A., Romashchenko A., Gubskiy I., Zabozaev F., Zavyalov E., Dymova M., Richter V., Kuligina E. Efficacy of Oncolytic Virus VV-GMCSF-Lact Against Immunocompetent Glioma. *Cells*. 2025;14(20):1619. <https://doi.org/10.3390/cells14201619>
 15. Mironov A.N., Merkulov V.A., Bunyatyan N.D., Bondarev V.P., et al., editors. Guidelines for Conducting Preclinical Studies of Medicinal Products (Immunobiological Medicinal Products). Moscow: Grif i K; 2012. 532 p. (In Russ.)
 16. Kemp V., van den Wollenberg D.J.M., Camps M.G.M., van Hall T., Kinderman P., Pronk-van Montfoort N., Hoebe R.C. Arming oncolytic reovirus with GM-CSF gene to enhance immunity. *Cancer Gene Therapy*. 2019;26:268–281. <https://doi.org/10.1038/s41417-018-0063-9>
 17. Shi X., Sun K., Li L., Xian J., Wang P., Jia, F., Xu F. Oncolytic Activity of Sindbis Virus with the Help of GM-CSF in Hepatocellular Carcinoma. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(13):7195. <https://doi.org/10.3390/ijms25137195>
 18. Cao H., Ye J., Li X., Si Y., Jin X., Xiong S., Ji T., Ding Y., Ma D., Gao Q., Wang X., Dai Z., Li F. A novel GM-CSF-encoding oncolytic adenovirus induces profound autophagy and promotes viral replication to enhance anti-tumor efficacy. *Cancer Gene Therapy*. 2025;32:1276–1291. <https://doi.org/10.1038/s41417-025-00962-0>
 19. Ageenko A.B., Vasileva N.S., Chesnokova A.S., Semenov D.V., Byvakina A.A., Dymova M.A., Sen'kova A.V., Nushtaeva A.A., Leonteva A.A., Savinovskaya Yu. I., Kochneva G.V., Richter V.A., Kuligina E.V. Oncolytic Virus VV-GMCSF-Lact and Human GM-CSF Against GL261 Glioma in Immunocompetent Mice. *Pharmaceuticals*. 2026;19(3):434. <https://doi.org/10.3390/ph19030434>
 20. Thorne S.H., Hwang T.-H.H., O'Gorman W.E., Bartlett D.L., Sei S., Kanji F., Brown C., Werier J., Cho J.-H., Lee D.-E., Wang Y., Bell J., Kirm D.H. Rational strain selection and engineering creates a broad-spectrum, systemically effective oncolytic poxvirus, JX-963. *Journal of Clinical Investigation*. 2007;117(11):3350–3358. <https://doi.org/10.1172/JCI32727>
 21. Kim J.H., Oh J.Y., Park B.H., Lee D.E., Kim J.S., Park H.E., Roh M.S., Je J.E., Yoon J.H., Thorne S.H., Kirm D., Hwang T.H. Systemic armed oncolytic and immunologic therapy for cancer with JX-594, a targeted poxvirus expressing GM-CSF. *Molecular Therapy*. 2006;14(3):361–370. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2006.05.008>
 22. Pencavel T.D., Wilkinson M.J., Mansfield D.C., Khan A.A., Seth R., Karapanagiotou E.M., Roulstone V., Aguilar R.J., Chen N.G., Szalay A.A., Hayes A.J., Harrington K.J. Isolated limb perfusion with melphalan, tumour necrosis factor-alpha and oncolytic vaccinia virus improves tumour targeting and prolongs survival in a rat model of advanced extremity sarcoma. *International Journal of Cancer*. 2015;136(4):965–976. <https://doi.org/10.1002/ijc.29059>
 23. Haddad D. Genetically Engineered Vaccinia Viruses As Agents for Cancer Treatment, Imaging, and Transgene Delivery. *Frontiers in Oncology*. 2017;7:96. <https://doi.org/10.3389/fonc.2017.00096>
 24. Rasa A., Alberts P. Oncolytic virus preclinical toxicology studies. *Journal of Applied Toxicology*. 2023;43(5):620–648. <https://doi.org/10.1002/jat.4408>
 25. Li M., Zhang M., Ye Q., Liu Y., Qian W. Preclinical and clinical trials of oncolytic vaccinia virus in cancer immunotherapy: a comprehensive review. *Cancer Biology & Medicine*. 2023;20(9):646–661. <https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2023.0202>