

С. Г. Зайчикова

## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ОТДЕЛЬНЫХ ВИДОВ ЧИНЫ НА В-ДИФФЕРЕНЦИРОВочную И ПРОТИВООПУХОЛЕВую АКТИВНОСТЬ

ММА им. И. М. Сеченова, Москва

Известно, что фенольные соединения, выделенные из различных представителей семейства бобовых, обладают широким спектром биологической активности [1 – 3], в том числе стимулируют противомикробный и противоопухолевый иммунитет [4].

Сведения о биологической активности представителей рода чина семейства бобовых практически отсутствуют, поэтому целью настоящей работы было изучение влияния суммы фенольных соединений, выделенных из отдельных представителей рода чины, на В-дифференцировочную и противоопухолевую активность.

*Материалы и методы*

Пролиферацию мононуклеаров крови (МНК) под действием ИЛ-2 (Пролейкин) и экстракта чины посевной, луговой и лесной оценивали при культивировании клеток в течение 3 или 6 сут.

Способность препарата вызывать дифференцировку В-лимфоцитов определяли в культуре лимфоидных клеток человека. Лимфоидные клетки выделяли на градиенте плотности фиколл-верографина. Клетки отмывали трижды средой 199, содержащей 1 % сыворотки крови человека группы АВ. Клетки культивировали в микроплатах в конечной концентрации 1 млн/мл. Объем культур составлял 0,2 мл. В качестве среды культивирования использовали RPMI-1640.

В культуры вносили исследуемый препарат, в качестве референс-препарата применяли рекомбинантный ИЛ-2. Оценку дифференцировки В лимфоцитов проводили по накоплению иммуноглобулинсекретирующих клеток (ИСК), выявляемых методом обратного ге-

молитического бляшкообразования (ОГБ) в микроплатах. Для этого в лунки плоскодонных микроплат, предварительно обработанных поли-L-лизинном, вносили 60 мкл взвеси эритроцитов барана (ЭБ), покрытых белком А стафилококка и 20 мкл взвеси культивируемых лимфоидных клеток. Микроплату инкубировали в течение 1 ч при 37°C в атмосфере с 5 % CO<sub>2</sub>. Затем вносили по 10 мкл анти-гамма сыворотки ("Behring") и повторно инкубировали при 37°C. Через 1 ч вносили в качестве комплемента по 10 мкл сыворотки морской свинки, абсорбированной ЭБ и взвесью бактерий стафилококка. Микроплату вновь инкубировали в течение 1 ч при 37°C. Учет зон гемолиза, соответствующих ИСК, проводили под инвертированным микроскопом при увеличении в 160 раз.

Противоопухолевое действие исследуемого раствора чины посевной, луговой и лесной изучалось на мышцах линии BALB/C с привитой опухолью Эрлиха. Опытные и контрольные группы состояли из 6 животных, которым подкожно вводили клетки меланомы В-16 в дозе 750 тыс. на одну мышцу. Исследуемый раствор вводили внутривенно в дозе 10 и 20 мг/кг (1/10 – 1/5 ЛД<sub>50</sub>) через 1, 3, 5, 7, 10, 12 сут после перевивки опухоли. В контрольной и опытных группах пальпируемые опухолевые узлы отмечались фактически одновременно на 5 и 7 сутки после подкожной трансплантации опухолевых клеток. Динамика увеличения опухолевой массы (асцита) оценивалась по весу животных.

*Результаты и их обсуждение*

Препараты вызывали пролиферацию МНК, определяемую по включению 3Н-тимидина. В большинстве краткосрочных экспериментов (культивирование МНК в присутствии препарата ИЛ-2 в течение 3 суток) пролиферация МНК наблюдалась при дозе ИЛ-2, равной 1 мкг/мл. При культивировании в течение 6 – 7 сут наблюдалось достоверное повышение пролиферативной активности в большинстве экспериментов. Отмечалось четкое дозо-зависимое усиление пролиферативной активности МНК при повышении концентрации ИЛ-2. При испытании экстракта чины посевной, луговой и лесной уровень пролиферации МНК зависел от природы препарата, так, в большинстве опытов экстракт чины посевной в концентрации 0,01 мг/мл в 3-х суточных культурах МНК вызывал более

Таблица 1  
Пролиферативный ответ лимфоидных клеток человека, индуцированный ИЛ-2 и экстрактом чины посевной, луговой и лесной

| Препарат      | Срок культивирования, сутки | Синтез ДНК в культурах МНК |             |              |             |
|---------------|-----------------------------|----------------------------|-------------|--------------|-------------|
|               |                             | Концентрация, мкг/мл       |             |              |             |
|               |                             | Контроль                   | 1           | 10           | 100         |
| ИЛ-2          | 3                           | 340 ± 196                  | 375 ± 3     | 521 ± 30     | 456 ± 227   |
|               | 7                           | 1443 ± 163                 | 2427 ± 506* | 1920 ± 252   | 2406 ± 494* |
| Чина посевная | 3                           | —                          | 376 ± 97    | 341 ± 28     | 356 ± 39    |
|               | 7                           | —                          | 1625 ± 616  | 22495 ± 212* | 1750 ± 715  |
| Чина луговая  | 3                           | —                          | 318 ± 113   | 335 ± 23     | 311 ± 193   |
|               | 7                           | —                          | 1311 ± 66   | 1206 ± 65    | 1532 ± 248  |
| Чина лесная   | 3                           | —                          | 418 ± 113   | 435 ± 23     | 311 ± 193   |
|               | 7                           | —                          | 1411 ± 161  | 1233 ± 285   | 1445 ± 111  |

\* — достоверные изменения по сравнению с контролем при  $p < 0,05$ .

Таблица 2  
Влияние ИЛ-2 и экстрактов чины на дифференцировку В-лимфоцитов человека

| Препарат      | Количество ИСК в конце культивирования в присутствии ИЛ-2 и экстракта чины посевной, луговой и лесной в концентрации (мкг/мл) |           |            |            |
|---------------|---|-----------|------------|------------|
|               | Контроль  | 1         | 10         | 100        |
|               | 435 ± 29  | –         | –          | –          |
| ИЛ-2          | –   | 717 ± 44* | 1567 ± 88* | 1117 ± 44* |
| Чина посевная | –   | 467 ± 73  | 917 ± 142* | 567 ± 73   |
| Чина луговая  | –   | 410 ± 10  | 383 ± 6,7  | 223 ± 7    |
| Чина лесная   | –   | 431 ± 42  | 542 ± 79*  | 435 ± 39   |

\* достоверные изменения ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем.

выраженную пролиферацию, сравнимую ИЛ-2. Чина луговая и лесная достоверно не влияли на этот показатель (табл. 1).

Определяли ИСК, секретирующие иммуноглобулины класса IgG. Данные В-дифференцировочной активности представлены как количество ИСК, продуцирующих IgG, на культуру клеток (табл. 2).

Из представленных материалов следует, что чина посевная в концентрации 1 мкг/мл в большинстве экспериментов вызывает достоверное увеличение уровня образования ИСК. Достоверное повышение этого параметра отмечено в той же концентрации при действии чины лесной. Чина луговая практически не влияла на способность В-клеток продуцировать иммуноглобулины. В контрольной и опытных группах пальпируемые опухолевые узлы отмечались фактически одновременно на 5 и 7 сутки после подкожной трансплантации опухолевых клеток. Динамика увеличения

опухолевой массы (асцита) оценивалась по весу животных. Испытанные концентрации экстрактов чины посевной, луговой и лесной не оказывали достоверного влияния на прирост опухолевой массы по сравнению с контрольными особями, однако отмечалась тенденция в течение первых 10 дней к меньшему накоплению асцитической жидкости у опытной группы и отставание в весе от контрольных мышей составляло 25 – 30 %. Вместе с тем к 14 – 15 сут вес опытных и контрольных животных не отличался. Первые случаи гибели животных опухоленосителей, как в контрольной, так и в опытной группе наблюдались на 20-е сутки.

На 23-е сутки эксперимента в опытных группах из 6-ти животных погибло 2 – 3 особи, в то время, как в контроле отмечался летальный эффект в 3 случаях из 6. На 26-е сутки регистрировалась 100% гибель мышей во всех группах.

Таким образом, тестируемые экстракты чины посевной, луговой и лесной в исследуемых дозах не оказывают противоопухолевого действия, однако отмечается некоторая тенденция к более медленному нарастанию опухолевой массы животных, подвергавшихся воздействию экстрактов чины.

## ЛИТЕРАТУРА

1. В. С. Бабаскин, *Автореф. докт. фарм. наук*, Москва (1993).
2. Т. В. Простодушева, *Автореф. канд. фарм. наук*, Москва (1998).
3. Л. И. Бабаскина, *Автореф. докт. фарм. наук*, Москва (1998).
4. Я. И. Хаджай, в кн.: *Тез. докл. 2-го Всесоюз. симпоз. по фенольным соедин.*, Наука, Алма-Ата (1970), сс. 137 – 138.

Поступила 04.06.01.