

УДК 615.099

ВЛИЯНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ, СОДЕРЖАЩИХ ФЛАВОНОИДЫ, НА ЛЕЙКОЦИТАРНУЮ ФОРМУЛУ И КРАСНЫЙ КОСТНЫЙ МОЗГ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС С ПЕРЕВИТОЙ САРКОМОЙ 45

**Наволокин Н.А., Мудрак Д.А., Матвеева О.В., Тычина С.А., Бучарская А.Б.,
Полуконова Н.В., Маслякова Г.Н.**

*ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского»
Минздрава России, Саратов, e-mail: navolokin1@rambler.ru*

Проведено изучение влияния флавоноидсодержащих экстрактов аврана лекарственного (*Gratiola officinalis*), бессмертника песчаного (*Helichrysum arenarium*) и диплоидной антоциановой формы кукурузы обыкновенной (*Zea mays*) на костный мозг и периферическую кровь при внутримышечном и пероральном введениях в эксперименте на лабораторных крысах с перевитой саркомой 45. Введение каждого из трех исследованных нами растительных экстрактов, содержащих флавоноиды, уменьшает объем перевитой опухоли от 61 до 70% в зависимости от метода их введения, а также вызывает развитие дистрофических и некротических изменений в опухолевой ткани. У животных перевиваемая опухоль вызывает изменения процентного соотношения ряда клеток в лейкоформуле и миелограмме. Пероральное и внутримышечное введение животным экстрактов кукурузы антоциановой и аврана лекарственного благоприятно влияет на миелоцитарный росток, с приведением показателей к норме, а также приводит к увеличению лимфоцитов как в лейкоформуле крови, так и миелограмме, что, с нашей точки зрения, служит важным звеном в активации иммунной системы и реализации противоопухолевого эффекта экстрактов. Экстракт бессмертника приводит к нормализации процентного соотношения сегментоядерных нейтрофилов, но по большинству показателей не изменяет количественного соотношения клеток по сравнению с контрольной группой животных с опухолью.

Ключевые слова: флавоноиды, авран, бессмертник, кукуруза, костный мозг, кровь, саркома 45

INFLUENCE OF PLANT EXTRACT CONTAINING FLAVONOIDS ON THE LEUCOCYTE FORMULA AND BONE MARROW OF LABORATORY RATS WITH TRANSPLANTED SARCOMA 45

**Navolokin N.A., Mudrak D.A., Matveeva O.V., Tychina S.A., Bucharskaya A.B.,
Polukonova N.V., Maslyakova G.N.**

Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Saratov, e-mail: navolokin1@rambler.ru

The study of the effect of extracts of *Gratiola officinalis*, *Helichrysum arenarium* and diploid forms of *Zea mays* in the bone marrow and blood after intramuscular and oral administration in experiments on laboratory rats with transplanted sarcoma-45 was carried out. Administration of each of the three extracts reduces transplanted tumor from 61 to 70% depending on the method of administration, and also causes dystrophic and necrotic changes in the tumor tissue. Transplantable animal tumors (sarcomas 45) causes changes of percentage ratio in the number of cells in leukogram and myelogram. Oral and intramuscular administration of flavonoid containing of *Zea mays* and *Gratiola officinalis* medicinal extracts to animals effects positively on myelocytic germ (undifferentiated blast cells, myeloblasts and neutrophil myelocytes) with reduction of performance to normal, and also leads to an increase of lymphocytes in the leukogram of blood and myelogram that, in our opinion, is an important link in the activation of the immune system and the implementation of the antitumor effect of extracts. Immortelle extract leads to normalization percentage ratio of segmented neutrophils, but does not change the quantitative ratio of cells in comparison with the control group of animals with tumor for most indicators.

Keywords: flavonoids, *Gratiola officinalis*, *Helichrysum arenarium*, *Zea mays*, bone marrow, blood, sarcoma 45

Онкологические заболевания занимают одно из ведущих мест в структуре смертности населения во всем мире. Долгое время считалось, что биофлавоноиды, обладающие широким спектром фармакологической активности, не слишком перспективны в плане противоопухолевой активности. Открытие в 2011 году способности растительного флавоноида Вагонина к активации апоптоза в опухолевых клетках [12] сделало актуальным поиск не только других биофлавоноидов, обладающих противоопухолевой активностью, но и выяснение механизмов такой активности.

Ранее нами был разработан способ получения флавоноидсодержащих экстрактов из трех растений: аврана лекарственного, бессмертника песчаного и диплоидной антоциановой формы кукурузы обыкновенной, позволяющий получать нетоксичные или слаботоксичные извлечения даже из ядовитых растений, к которым как раз и относился авран лекарственный [7]. Были также получены сведения, что данные экстракты обладают антиканцерогенным, антиоксидантным, противоопухолевым, иммуномодулирующим [2, 5, 6, 8] и антимикробным действиями [9]. Однако детального анализа токсичности исследуемых экстрактов не было.

двумя флавоноидсодержащих растительных экстрактов, а именно анализа их влияния на лейкоцитарную формулу крови и костный мозг, до сих пор не проводилось.

Цель работы: изучить влияние флавоноидсодержащих экстрактов аврана лекарственного (*Gratiola officinalis*), бессмертника песчаного (*Helichrysum arenarium*) и диплоидной антоциановой формы кукурузы обыкновенной (*Zea mays*) на костный мозг и периферическую кровь при внутримышечном и пероральном введении в эксперименте на лабораторных крысах с перевитой саркомой 45.

Материалы и методы исследования

В работе использовали экстракты, полученные запатентованным нами способом двойной спиртовой экстракции с последующим осаждением неполярных веществ (алкалоидов и гликозидов и др.) хлороформом из следующего сырья: листьев и цветков аврана лекарственного, цветков бессмертника песчаного и листьев обертки антоциановой формы кукурузы обыкновенной [7]. Растительное сырье было собрано на территории Саратовской области: на островах Волгоградского водохранилища в районе с. Чардым; пойме р. Медведица Лысогорского района. Сырье кукурузы антоциановой, выращенной на экспериментальном участке в окрестностях г. Петровска, было предоставлено нам сотрудниками кафедры генетики и дарвинизма СГУ им. Н.Г. Чернышевского.

Стандартизацию флавоноидсодержащих экстрактов проводили по кверцетину и рутину. Среднее значение кверцетина в экстракте аврана, определенное по градуировочному графику с использованием стандартного образца кверцетина (Sigma, 98%), не должно было быть ниже 0,66%; количество кверцетина, в сухом остатке экстрактивных веществ (на 350 мг экстрактивных веществ), установленное методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) – не должно было быть ниже 350 мкг.

В экстракте бессмертника среднее значение кверцетина в смеси, установленное методом ВЭЖХ, не должно было быть ниже 0,3 мкг/мл, а количество кверцетина в сухом остатке (на 350 мг экстрактивных веществ) – не ниже 150 мкг; найдено количество флавоноидов в пересчете на рутин, определенное методом молекулярной абсорбционной спектроскопии – не ниже 29,40 мкг/мл; массовое процентное содержание флавоноидов в экстракте – не ниже 21,0%.

Среднее значение полученных определений кверцетина в смеси экстракта кукурузы, установленное нами методом ВЭЖХ, не должно было быть ниже 0,7 мкг/мл; количество кверцетина в сухом остатке (на 260 мг экстрактивных веществ) – не ниже 350 мкг; найдено количество флавоноидов в пересчете на рутин, определенное методом молекулярной абсорбционной спектроскопии – не ниже 16,46 мкг/мл; массовое процентное содержание флавоноидов в экстракте – не ниже 15,8%.

В эксперименте, проводимом в соответствии с руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ [10], было использовано 48 самцов белых беспородных крыс линии Wistar массой 152 ± 12 г,

в возрасте 3 месяцев (по 6 животных в группе). Саркома 45 перевивалась подкожно в область между лопатками в виде 25%-й взвеси культуры клеток в растворе Хенкса.

В качестве контроля были сформированы две группы: группа контроля № 1 – «здоровые» животные без воздействия и без опухоли; группа контроля № 2 – животные с перевитой саркомой-45 без воздействия. Двойной контроль в данном эксперименте был необходим для исключения развивающихся изменений под влиянием перевитой опухоли.

Оставшиеся животные были разделены на шесть опытных групп: первые две группы получали экстракт бессмертника: группа № 3 – внутримышечно в дозе 1 г/кг; № 4 – перорально в дозе 1 г/кг. Следующие две группы получали экстракт кукурузы: группа № 5 – внутримышечно в дозе 0,32 г/кг; № 6 – перорально в дозе 0,32 г/кг. Следующие две группы получали экстракт аврана: № 7 – внутримышечно в дозе 0,11 г/кг; № 8 – перорально в дозе 0,11 г/кг. Рабочая концентрация растворов экстрактов составляла 100 мг/мл.

Дизайн эксперимента. Животных вводили в эксперимент через 72 часа после перевивки опухоли (саркомы-45) и вводили перорально и внутримышечно экстракты ежедневно в течение двух недель. Внутримышечное введение осуществлялось стерильными инсулиновыми шприцами поочередно в мышцы правых и левых задних лап животных. Пероральное введение осуществляли при помощи желудочных зондов. Перед введением экстракта ежедневно рассчитывали дозу водного раствора каждого экстракта для каждого животного, исходя из определения его массы. Таким образом, достигали постоянства концентрации действующего агента на килограмм массы животного.

По истечении двух недель животных выводили из эксперимента путем декапитации. Определяли объем опухоли и производили забор периферической крови и костного мозга из бедренной кости и опухоли, которая взвешивалась.

Окраску мазков крови и костного мозга осуществляли стандартными методами. Проводили количественную и качественную оценки мазков крови. В мазках крови производили подсчет не менее 100 клеток, а затем вычисляли процентное соотношение клеток и определяли лейкоцитарную формулу.

Мазки костного мозга фиксировали в течение пяти минут раствором фиксатора – красителя эозина метиленового синего по Май-Грюнвальду, затем окрашивали 20 минут красителем по Романовскому. Подсчет проводили под большим увеличением ($\times 1000$), на не менее чем 500 клетках и рассчитывали их процентное соотношение (миелограмму) [3].

Для обработки полученных данных использовалось статистическое программное обеспечение SPSS v.20.0 с вычислением средней и ее стандартной ошибки, проведением дисперсионного анализа на нормальность распределения. Распределение признаков в группах являлось нормальным, поэтому значимость различий при параметрическом распределении определяли при помощи t-Критерия Стьюдента для независимых выборок, достоверными отличия считали при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Изменения лейкоцитарной формулы крови. При сравнении показателей в двух

контрольных группах: здоровых животных и животных с перевитой опухолью без воздействия – отмечали увеличение ($p < 0,05$) палочкоядерных нейтрофилов и лимфоцитов и уменьшение сегментоядерных нейтрофилов в группе животных с опухолью (табл. 1).

При внутримышечном и пероральном введении экстракта бессмертника опухолью не обнаружено значимых изменений в крови по сравнению с контрольной группой животных № 2 с (табл. 1).

При внутримышечном и пероральном введении экстракта кукурузы наблюдали увеличение ($p < 0,05$) количества палочкоядерных лейкоцитов в 1,6 и на 1,26 раза соответственно, по сравнению с контрольной группой № 2 (табл. 1).

При пероральном введении экстракта аврана отмечали увеличение ($p < 0,05$) в 1,4 раза количества сегментоядерных лейкоцитов по сравнению с группой контроля № 2 (табл. 1).

Изменения в миелограмме

Недифференцированные бласты (табл. 2). Сравнительный анализ изменений процентного соотношения клеток в миелограмме у животных из двух контрольных групп показал уменьшение в два раза недифференцированных бластов в группе животных с опухолью по сравнению со здоровыми животными. При пероральном и внутримышечном введении экстрактов аврана и кукурузы отмечали увеличение недифференцированных бластов по сравнению с группой контроля № 2 и приближение значений к здоровым животным (гр. контроля № 1). Только при введении экстракта бессмертника (пероральном и внутримышечном) не наблюдали восстановления процентного соотношения недифференцированных бластов.

Миелобласты (табл. 2). При сравнении двух контрольных групп наблюдали уменьшение ($p < 0,05$) миелобластов в два раза в группе контроля № 2 по сравнению со здоровыми животными. Анализ показателей в экспериментальных группах показал, что введение всех трех экстрактов способствует нормализации данного показателя, при этом в большей степени при введении экстракта кукурузы (достоверные отличия с группой контроля № 2, в которой из-за опухолевой интоксикации данный показатель снижается) и в меньшей степени – при авране и бессмертнике.

Нейтрофильные промиелоциты (табл. 2). В контрольной группе животных № 2 (с опухолью) отмечали уменьшение в 1,4 раза нейтрофильных промиелоцитов

по сравнению с контрольной группой здоровых животных № 1. В опытных группах при пероральном и внутримышечном введениях экстрактов кукурузы, аврана, а также пероральном введении экстракта бессмертника наблюдали тенденцию приближения полученных показателей в контрольной группе здоровых животных, а при пероральном введении аврана показатель достигал значений нормы и отличался от группы № 2 с опухолью, но без воздействия. При внутримышечном введении бессмертника наблюдали дальнейшее уменьшение количества нейтрофильных промиелоцитов (в 2,6 раза по сравнению со здоровыми животными).

Нейтрофильные миелоциты (табл. 2). В группе животных с опухолью без воздействия (группа контроля № 2) было выявлено уменьшение (в 2,5 раза) показателя нейтрофильных миелоцитов по сравнению с группой здоровых животных. В опытных группах с пероральным введением аврана и бессмертника тенденция к уменьшению нейтрофильных миелоцитов продолжается, хотя полученные показатели статистически недостоверны. Во всех остальных экспериментальных группах количество нейтрофильных миелоцитов после введения экстрактов увеличивается и приближается к показателям здоровых животных. Но только при пероральном введении кукурузы отмечали достоверное увеличение в 2,3 раза по сравнению с группой контроля с опухолью и возвращение показателя к норме.

Со стороны **нейтрофильных метамиелоцитов и нейтрофильных палочкоядерных лейкоцитов** статистически достоверных изменений не обнаружено.

Нейтрофильные сегментоядерные лейкоциты (табл. 2). В контрольной группе № 2 наблюдали увеличение нейтрофильных сегментоядерных лейкоцитов, по сравнению с группой здоровых животных. В опытных группах отмечали тенденцию к уменьшению клеток данного типа. Лишь в группе животных с пероральным введением экстракта бессмертника наблюдали уменьшение в 1,19 раза количества нейтрофильных сегментоядерных лейкоцитов.

Эозинофилы (табл. 2). В контрольной группе животных с опухолью количество эозинофилов увеличивается в 1,9 раза по сравнению со здоровыми животными, что согласуется с литературными данными, согласно которым интоксикация на фоне некротизации опухоли может приводить к увеличению эозинофилов в крови [4].

Следует отметить, что описываемые нами изменения соотношения клеток в миелограмме не сопровождались увеличением количества эозинофилов в крови.

В опытных группах при введении всех трех экстрактов наблюдали отсутствие достоверных изменений доли эозинофилов по сравнению с контрольной группой животных с опухолью. И только при пероральном введении бессмертника наблюдали увеличение количества эозинофилов по сравнению с контрольной группой животных с опухолью.

Пронормобласты (табл. 2). В группе контроля животных с опухолью наблюдали уменьшение в 1,5 раза пронормобластов по сравнению со здоровыми животными. В опытных группах введение экстрактов кукурузы и аврана приводит данный показатель миелограммы к показателям здоровых животных. Экстракт бессмертника при обоих методах введения не способствует изменению доли пронормобластов по сравнению с контрольной группой № 2 с опухолью.

Полихроматофильные нормобласты (табл. 2). Содержание полихроматофильных нормобластов между контрольными группами достоверно не изменяется. В опытных группах при внутримышечном введении

экстракта аврана отмечали увеличение в 1,7 раза по сравнению с контрольной группой животных с опухолью и в 1,4 раза – по сравнению со здоровыми животными. В группе с пероральным введением кукурузы показатели полихроматофильных нормобластов достоверно отличаются только по сравнению со здоровыми животными контрольной группы № 1.

Лимфоциты (табл. 2). Количество лимфоцитов в миелограмме между группами контроля достоверно не отличается. Достоверное уменьшение доли лимфоцитов происходит при пероральном и внутримышечном введениях экстрактов аврана и кукурузы.

На количество **нейрофильных метамиелоцитов, нейтрофильных палочкоядерных, базофилов, эритробластов, нормобластов, нормобластных базофилов, оксифильных нормобластов, моноцитов, плазматических клеток** в процентном соотношении экстракты аврана, кукурузы и бессмертника влияния не оказывают (табл. 2).

Влияние экстрактов на рост саркомы 45 (табл. 3).

При пероральном и внутримышечном введении экстракта аврана отмечали статистически достоверное уменьшение объема опухоли на 63 % и 57,4 %, соответственно.

Таблица 1

Показатели лейкоцитарной формулы периферической крови крыс при введении флавоноидсодержащих экстрактов

Группа	Палочки%	Сегменты%	Эозинофилы%	Базофилы%	Моноциты%	Лимфоциты%
Контроль № 1	1,5 ± 0,5	58,00 ± 1,0	2,0 ± 0,5	0,0 ± 0,0	9,5 ± 0,5	29,0 ± 1,0
Контроль № 2	8,33 ± 0,33 А-**	11,33 ± 0,33 А-**	2,0 ± 0,57	1,33 ± 0,33	8,0 ± 1,54	69,0 ± 2,64 А-**
Бессм. в/м	7,67 ± 0,33 А-**	12,67 ± 2,18 А-**	1,67 ± 0,33	0,67 ± 0,33	6,33 ± 0,88	71,0 ± 1,73 А-**
Бессм. пер	7,0 ± 1,15 А-**	12,0 ± 1,54 А-**	1,67 ± 0,33	0,67 ± 0,33	8,33 ± 0,88	70,3 ± 1,2 А-**
Кукуруза в/м	13,3 ± 1,77 А-** Б-*	17,0 ± 2,51 А-**	1,33 ± 0,33	0,67 ± 0,33	8,0 ± 1,0	59,0 ± 5,17 А-**
Кукуруза пер	10,5 ± 0,5 А- Б-*	13,5 ± 2,5 А-**	1,0 ± 0,5	1,0 ± 0,5	4,0 ± 1,0	70,0 ± 4,0 А-**
Авран в/м	9,66 ± 1,2 А-*	14,67 ± 1,67 А-**	1,67 ± 0,33	1,0 ± 0,33	8,67 ± 0,67	64,33 ± 3,17 А-**
Авран пер.	9,33 ± 0,66 А-**	15,67 ± 0,88 А-** Б-*	1,33 ± 0,33	0,33 ± 0,33	5,67 ± 0,89	67,67 ± 2,72 А-**

Примечания. Значимость отличий определяли между контрольными группами, контрольными животными № 1 и экспериментальными группами – (А), группой контроля № 2 и экспериментальными группами – (Б); * – достоверные отличия при $p < 0,05$; ** – достоверные отличия при $p < 0,01$.

Таблица 2

Процентное соотношение клеточного состава костного мозга

Клетки \ Группа	Группа контроля № 1	Группа контроля № 2	Бессм. в/м	Бессм. Peros	Кук. в/м	Кук. Peros	Авран в/м	Авран Peros
Недифференцированные бласты	1,25 ± 0,25	0,62 ± 0,125 А-**	0,5 ± 0,0 Б-*	0,75 ± 0,25 Б-*	1,5 ± 0,0 С-**	1,33 ± 0,17 С-*	1,25 ± 0,25	1,0 ± 0,0
Мелобласты	1,25 ± 0,25	0,62 ± 0,12 А-**	0,83 ± 0,33	1,0 ± 0,0	1,17 ± 0,17 С-*	1,17 ± 0,17 С-*	1,0 ± 0,0	0,75 ± 0,25
Нейтрофильные промиелоциты	1,75 ± 0,25	1,25 ± 0,25 А-*	0,67 ± 0,17 Б-*	1,5 ± 0,5	1,5 ± 0,29	1,5 ± 0,29	1,5 ± 0,0	2,0 ± 0,0 Б-*
Нейтрофильные миелоциты	1,25 ± 0,25	0,5 ± 0,0 А-**	0,67 ± 0,44 Б-*	0,25 ± 0,25 Б-*	1,0 ± 0,29	1,17 ± 0,17 С-*	1,0 ± 0,5	0,25 ± 0,25 А-*
Нейтрофильные метамиелоциты	1,75 ± 1,25	2,12 ± 0,53	2 ± 0,87	1,25 ± 0,75	2,33 ± 0,73	2,0 ± 0,58	2,0 ± 1,0	1,75 ± 0,25
Нейтрофильные палочкоядерные лейкоциты	6,75 ± 1,25	6,12 ± 0,83	10 ± 1,53	9,25 ± 1,25	7 ± 0,5	6,17 ± 0,67	6,75 ± 1,25	7,0 ± 1,0
Нейтрофильные сегментоядерные лейкоциты	41,75 ± 1,25	44,87 ± 1,65 А-*	37,33 ± 5,78	35,00 ± 3,0 Б-** В-*	39,5 ± 3,62	42,33 ± 2,59	36,75 ± 6,25	40,5 ± 4,5
Эозинофилы	3,00 ± 0,0	5,87 ± 1,45 А-*	6,83 ± 3,61	12,75 ± 1,75 Б-* С-*	7,17 ± 2,52 Б-*	5,33 ± 1,36 Б-*	7,5 ± 0,5 С-*	4,5 ± 1,5
Базофилы	0,25 ± 0,25	0,75 ± 0,32	0,33 ± 0,17	0,25 ± 0,25	0,67 ± 0,44	1 ± 0,76	0	0,75 ± 0,25
Эритробласты	2,00 ± 0,0	1,62 ± 0,31	1,5 ± 0,5	1,75 ± 0,75	1,83 ± 0,44	2,0 ± 0,0	1,25 ± 0,75	2 ± 0,1
Пронормобласты	3,25 ± 0,75	2,12 ± 0,24 А-**	2,33 ± 0,73 Б-*	2,0 ± 0,5 С-*	3,5 ± 0,76	4,0 ± 1,0	3,0 ± 1,0	4,0 ± 1,0
Нормобласты базофильные	4,75 ± 0,75	5,87 ± 1,01	4,5 ± 1,15	5,75 ± 0,25	4,33 ± 1,36	3,67 ± 1,09	7,5 ± 0,5	4,75 ± 1,75
Нормобласты полихроматофильные	11,25 ± 2,25	9,5 ± 1,41	10,17 ± 1,92	9 ± 2,0	11,17 ± 0,73	14, ± 1,04 Б-*	16,0 ± 0,1 Б-* С-*	12,5 ± 0,5
Нормобласты оксифильные	5,75 ± 1,25	6,0 ± 0,89	8,17 ± 1,86	7,5 ± 1,5	7,5 ± 1,15	6,67 ± 0,6	7,25 ± 2,25	4,5 ± 1,0
Лимфоциты	13,75 ± 1,75	12,0 ± 0,82	13,0 ± 1,0	11,75 ± 0,75 Б-*	9,17 ± 0,17 Б-* С-*	8,5 ± 0,5 Б-* С-*	8,75 ± 1,75 Б-** С-*	6,25 ± 1,25 Б-** С-*
Моноциты	0	0	0	0	0	0	0	0
Плазматические клетки	0,25 ± 0,25	0 А-*	0	0,25 ± 0,25	0,67 ± 0,44	0	0,25 ± 0,25	0,5 ± 0,5
Лейко-эритробластическое отношение	2,85 ± 0,08	3,08 ± 0,35	3,16 ± 0,44	3 ± 0,77	2,76 ± 0,27	2,3 ± 0,05	2,06 ± 0,07 С-*	2,94 ± 0,71

Примечания. А – Значимость отличий между контрольными группами, Б – также контрольной группой № 1 и экспериментальными группами; С – значимость отличий между группой контроля № 2 и экспериментальными группами; * – достоверные отличия $p < 0,05$; ** – достоверные отличия $p < 0,01$.

Таблица 3

Объем опухоли у животных с перевиваемой саркомой-45 на конец эксперимента (14-й день)

Группа	Контроль (группа сравнения)	Бессм. в/м	Бессм. Peros	Кук. в/м	Кук. Peros	Авран в/м	Авран Peros
Объем опухоли (см ³)	25,58 ± 3,72	7,66 ± 1,37 **	9,05 ± 2,96 *	9,96 ± 1,56 *	10,0 ± 0,6 **	9,41 ± 1,7 **	10,89 ± 1,47 *

Пр и м е ч а н и е . Степень достоверности отличий, при *p < 0,01; **p < 0,005.

При пероральном и внутримышечном введении экстракта бессмертника наблюдали статистически достоверное уменьшение объема опухоли на 70% и 64,6%, соответственно.

Как при пероральном, так и внутримышечном введении экстракта кукурузы выявили статистически достоверное уменьшение объема опухоли на 61%.

При гистологическом исследовании опухоли после введения экстрактов отмечали развитие обширных зон некроза до 90% гистологического среза, а также атрофические и дистрофические изменения клеток. Таким образом, введение экстрактов приводило как к уменьшению размеров опухоли, так и развитию в ней некротических и дистрофических процессов.

Введение экстракта бессмертника как внутримышечно, так и перорально, приводит к уменьшению опухоли на 70% и 64,6%, соответственно, и не приводит к изменению лейкоцитарной формулы крови в группе экспериментальных животных по сравнению с контрольной группой крыс, имеющих перевитую саркому. Однако изменения в опытных группах отличаются от показателей в контрольной группе здоровых животных № 1.

В костном мозге животных опытных групп при введении экстракта бессмертника процентное соотношение недифференцированных бластов, нейтрофильных миелоцитов, пронормобластов также сходно с изменениями миелограммы в группе контроля № 2 (животных с опухолью), по сравнению с нормой. Следовательно, можно полагать, что все изменения, как в периферической крови, так и в костном мозге, развиваются под воздействием самой опухоли и ее вторичных изменений (некроза и дистрофии).

Следует отметить, что пероральное введение бессмертника нормализует количество нейтрофильных миелоцитов в миелограмме, а внутримышечное введение – понижает их долю в миелограмме по сравнению с обеими контрольными группами. Кроме этого, при пероральном введении

экстракта бессмертника увеличивается доля эозинофилов и уменьшается количество сегментоядерных нейтрофилов по сравнению с контрольной группой животных № 2 с опухолью, т.е. приводит к нормализации данного показателя.

Под действием экстракта кукурузы независимо от метода введения происходит уменьшение объема опухоли на 61%. В костном мозге животных опытных групп по сравнению с контрольной группой № 2 отмечается увеличение доли недифференцированных бластных клеток, а также миелобластов и нейтрофильных миелоцитов. Данные показатели приближаются к норме и статистически достоверно не различаются с показателями контрольной группы здоровых животных. Следовательно, экстракт кукурузы сам по себе не приводит к изменению данных показателей и нормализует изменения, вызванные опухолевым ростом. Процентное уменьшение количества лимфоцитов в составе клеток костного мозга может свидетельствовать об ускоренном или повышенном переходе лимфоцитов на второй этап созревания в периферические органы иммуногенеза. Кроме этого, мы наблюдали увеличение лимфоцитов в периферической крови по сравнению с контролем, что может являться следствием опухолевого процесса и активации специфической иммунной системы [1].

При внутримышечном введении экстракта аврана лекарственного уменьшение объема опухоли происходит на 63% – при внутримышечном и на 57,4% при пероральном введении. В костном мозге отмечается увеличение полихроматофильных нормобластов, являющихся предшественниками эритроцитов, как по отношению к группе сравнения, так и по отношению к контролю, что может служить показателем стимулирующего эффекта на эритроцитарный росток. Уменьшение количества лимфоцитов в костном мозге также может свидетельствовать об ускоренном созревании лимфоцитов и переходе их на второй этап созревания в периферические органы иммуногенеза [1]. Увеличение в пе-

риферической крови сегментоядерных нейтрофилов, по-видимому, служит следствием выраженного некроза опухоли под действием экстракта и развитием интоксикации.

Выводы

Введение каждого из трех исследованных нами растительных экстрактов, содержащих флавоноиды, уменьшает объем перевитой опухоли от 61 до 70% в зависимости от метода их введения, а также вызывает развитие дистрофических и некротических изменений в опухолевой ткани.

У животных перевиваемая опухоль (саркомы-45) вызывает изменения процентного соотношения ряда клеток в лейкоформуле и миелограмме.

Пероральное и внутримышечное введение животным экстрактов кукурузы антоциановой и аврана лекарственного благоприятно влияет на миелоцитарный росток (недифференцированных бластных клеток, миелобластов и нейтрофильных миелоцитов) с приведением показателей к норме, а также приводит к увеличению лимфоцитов как в лейкоформуле крови, так и миелограмме, что, с нашей точки зрения, служит важным звеном в активации иммунной системы и реализации противоопухолевого эффекта экстрактов.

Экстракт бессмертника приводит к нормализации процентного соотношения сегментоядерных нейтрофилов, но по большинству показателей не изменяет количественного соотношения клеток по сравнению с контрольной группой животных с опухолью.

Список литературы

1. Белоусов Ю.Б., Моисеев В.С., Лепяхин В.К. Клиническая фармакология и фармакотерапия. Руководство для врачей. – М., 2010. – 532 с.
2. Байтман Т.П., Наволокин Н.А. Влияние экстракта аврана лекарственного на лабораторных животных с перевитой саркомой S-45 // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2013. – № 3(2). – С. 374.
3. Гладилин Г.П., Симонова М.И. Гемограмма и миелограмма / учебно-методическое руководство. Кафедра клинической лабораторной диагностики ФПК ППС. – 2004. – С. 37.
4. Кондрашева Е.А., Островский А.Ю. *In vitro* диагностика. Лабораторная диагностика. – 3-е изд. Перераб. и доп. – М.: Мдиздат, 2012. – С. 840.
5. Наволокин Н.А., Полуконова А.В., Бибикова О.А., Полуконова Н.В., Бучарская А.Б., Маслякова Г.Н. Цитоморфологические изменения клеток почки эмбриона свиньи в культуре (spev-2) при воздействии экстракта аврана лекарственного (*Gratiola officinalis* L.) // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10, часть 7. – С. 1369–1374.
6. Наволокин Н.А., Полуконова Н.В., Маслякова Г.Н. и др. Морфология внутренних органов и опухоли лабораторных крыс с перевитым раком печени Рс-1 при пероральном введении флавоноидсодержащих экстрактов аврана лекарственного (*Gratiola officinalis* L.) и кукурузы антоциановой (*Zea mays* L.) / Саратовский научно-медицинский журнал. – 2013. – № 9(2). – С. 213–220.
7. Полуконова А.В., Дурнова Н.А., Курчатова М.Н. и др. Химический анализ и способ получения новой биоло-

гически активной композиции из травы аврана лекарственного (*Gratiola officinalis* L.) / Химия растительного сырья. – 2013. – № 4. – С. 165–173.

8. Полуконова А.В., Наволокин Н.А., Бибикова О.А. Цитотоксическая активность *in vitro* экстракта аврана на культуре клеток почек эмбрионов свиньи, зараженных онковирусом / Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2013. – № 3(2) – С. 375.

9. Полуконова А.В., Наволокин Н.А., Райкова С.В., Маслякова Г.Н., Бучарская А.Б., Дурнова Н.А., Шуб Г.М. Противовоспалительная, жаропонижающая и антимикробная активность флавоноидсодержащего экстракта аврана лекарственного (*Gratiola officinalis* L.) // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2015. – том 78, № 1. – С. 34–38.

10. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М.: ОАО «Изд-во «Медицина», 2005. – 832 с.

11. Navolokin N.A., Polukonova N.V., Maslyakova G.N. etc. Effect of extracts of *Gratiola officinalis* and *Zea mays* on the tumor and the morphology of the internal organs of rats with transplanted liver cancer / Russian Open Medical Journal. – 2012. – № 2(1). – P. 0203.

12. Polier G.I., Ding J., Konkimalla B.V., Eick D., Ribeiro N., Köhler R., Giaisi M., Efferth T., Desaubry L., Krammer P.H., Li-Weber M. / Wogonin and related natural flavones are inhibitors of CDK9 that induce apoptosis in cancer cells by transcriptional suppression of Mcl-1. // Cell Death Dis. – 2011 Jul 21;2:e182.

References

1. Belousov Ju.B., Moiseev V.S., Lepahin V.K. Klinicheskaja farmakologija i farmakoterapija. Rukovodstvo dlja vrachej. M., 2010. 532 p.
2. Bajtman T.P., Navolokin N.A. Vlijanie jekstrakta avrana lekarstvennogo na laboratornyh zhivotnyh s perevitoy sarkomoj S-45 // Bjulleten medicinskih internet-konferencij. 2013. no. 3(2). pp. 374.
3. Gladilin G.P., Simonova M.I. Gemogramma i mielogramma / uchebno-metodicheskoe rukovodstvo. Kafedra klinicheskoy laboratornoj diagnostiki FPK PPS. 2004. pp. 37.
4. Kondrasheva E.A., Ostrovskij A.Ju. *In vitro* diagnostika. Laboratornaja diagnostika. 3-e izd. Pererab. i dop. M.: Mdzdat, 2012. pp. 840.
5. Navolokin N.A., Polukonova A.V., Bibikova O.A., Polukonova N.V., Bucharskaja A.B., Maslyakova G.N. Citomorfologicheskie izmenenija kletok pochki jembriona svini v kulture (spev-2) pri vozdejstvii jekstrakta avrana lekarstvennogo (*Gratiola officinalis* L.) // Fundamentalnye issledovanija. 2014. no. 10, chast 7. pp. 1369–1374.
6. Navolokin N.A., Polukonova N.V., Maslyakova G.N. i dr. Morfologija vnutrennih organov i opuholi laboratornyh krys s perevitym rakom pečeni Rs-1 pri peroralnom vvedenii flavonoidsoderzhashhih jekstraktov avrana lekarstvennogo (*Gratiola officinalis* L.) i kukuruzy antocianovoj (*Zea mays* L.) / Saratovskij nauchno-medicinskij zhurnal. 2013. no. 9(2). pp. 213–220.
7. Polukonova A.V., Durnova N.A., Kurchatova M.N. i dr. Himicheskij analiz i sposob poluchenija novoj biologicheski aktivnoj kompozicii iz travy avrana lekarstvennogo (*Gratiola officinalis* L.) / Himija rastitelnogo syrja. 2013. no. 4. pp. 165–173.
8. Polukonova A.V., Navolokin N.A., Bibikova O.A. Citotoksicheskaja aktivnost *in vitro* jekstrakta avrana na kulture kletok pochek jembrionov svini, zarazhennyh onkovirusom / Bjulleten medicinskih internet-konferencij. 2013. no. 3(2) pp. 375.
9. Polukonova A.V., Navolokin N.A., Rajkova S.V., Maslyakova G.N., Bucharskaja A.B., Durnova N.A., Shub G.M. Protivovospalitel'naja, zharoponizhajushhaja i antimikrobnaja aktivnost flavonoidsoderzhashhego jekstrakta avrana lekarstvennogo (*Gratiola officinalis* L.) // Jeksperimentalnaja i klinicheskaja farmakologija. 2015. tom 78, no. 1. pp. 34–38.
10. Habriev R.U. Rukovodstvo po jeksperimentalnomu (doklinicheskomu) izucheniju novyh farmakologicheskikh veshhestv. M.: ОАО «Изд-во «Медицина», 2005. 832 p.
11. Navolokin N.A., Polukonova N.V., Maslyakova G.N. etc. Effect of extracts of *Gratiola officinalis* and *Zea mays* on the tumor and the morphology of the internal organs of rats with transplanted liver cancer / Russian Open Medical Journal. 2012. no. 2(1). pp. 0203.
12. Polier G.I., Ding J., Konkimalla B.V., Eick D., Ribeiro N., Köhler R., Giaisi M., Efferth T., Desaubry L., Krammer P.H., Li-Weber M. / Wogonin and related natural flavones are inhibitors of CDK9 that induce apoptosis in cancer cells by transcriptional suppression of Mcl-1. // Cell Death Dis. 2011 Jul 21;2:e182.