

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТА *ACONITUM BAIKALENSE STENB.* НА РАЗВИТИЕ
ВОСПАЛЕНИЯ В УСЛОВИЯХ ТОКСИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ
ЭПИТЕЛИЯ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

О.Ю. Рыбалкина

Научный руководитель: профессор, д.м.н. Е.Г. Скурихин

Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д.

Гольдберга Томского Национального исследовательского медицинского центра,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 3, 634028

E-mail: olgatomsk87@gmail.com

**INFLUENCE OF THE EXTRACT *ACONITUM BAIKALENSE STENB.* ON INFLAMMATION
DEVELOPMENT AT BREAST EPITHELIUM TOXIC DAMAGE**

O.Yu. Rybalkina

Scientific supervisor: PhD, E.G. Skurichin,

Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk NRMC,

Russia, Tomsk, Lenina Ave, 3, 634028

E-mail: olgatomsk87@gmail.com

Abstract. *There's considered the effect of extract *A. baikalense Stenb* on inflammation development at breast epithelium toxic damage It is shown that use MNU-induced inflammation with the extract of *A. baikalense Stenb* inhibition the development of inflammation and reduces cancer stem cells ($CD44^+CD24^-$).*

Введение. Воспаление – один из самых распространенных общебиологических процессов, лежащий в основе многих заболеваний. Главной целью противовоспалительной терапии является подавление активности уже существующего воспалительного процесса и его прогрессии. Однако противовоспалительные препараты не лишены побочных эффектов [1]. Чрезвычайно высокая стоимость препаратов этой группы ограничивает их широкое применение. В связи с этим создание эффективных препаратов на основе лекарственных растений, обладающих выраженными противовоспалительными свойствами, является актуальным. Алкалоиды представляют собой класс природных соединений, обладающий биологической активностью, проявляя адаптогенный, тонизирующий, антиоксидантный, противовоспалительный, ноотропный, противоопухолевый и другие эффекты [2]. Ярким представителем алкалоидсодержащих лекарственных растений является семейство лютиковых (*Ranunculaceae*) – акониты (род *Aconitum*), в частности *A. baikalense* L. Богатая сырьевая база и низкая себестоимость производства делают эти лекарственные средства перспективными для создания на их основе новых, высокоэффективных препаратов. В настоящее время, не существует литературных данных, доказывающих, что *Aconitum baikalense Stenb.* препятствует переходу хронического воспаления в процесс образования опухолей. Учитывая вышесказанное, представляется перспективным изучение экстракта *Aconitum baikalense Stenb* в эксперименте на новой биологической модели MNU - индуцированного воспаления молочной железы.

Материалы и методы исследования. Эксперимент проведен на 60 мышах-самках линии BALB/C в возрасте 10-14 недель, массой 20-21 г. Животные первой категории поступили из отдела экспериментальных биологических моделей НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ (Ветеринарное удостоверение 270 № 0007293). Содержание животных и экспериментальный дизайн были одобрены этическим комитетом НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга и соответствовали международным правилам, принятым Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей. Хроническое воспаление эпителия молочной железы мышей вызывали N-метил-N-нитрозомочевинной (MNU) (Sigma, США) - канцероген используемый для индукции опухоли молочной железы у грызунов. MNU растворяли в физиологическом растворе (0,9 % NaCl). С целью повышения стабильности раствора pH доводили до 4,0 с помощью 0,05 % уксусной кислотой [3]. 14-недельным мышам-самкам канцероген вводили в дозе 50 мг/кг подкожно вдоль вентральной линии между 3-4 парами молочных желез: патологический контроль. Инъекция MNU принимали за 0-й день эксперимента. На 14 сут исследования проводили внешний осмотр и взвешивание животных, пальпацию молочных желез. Объектом исследования являлся экстракт *A. baikalense Stenb.*, полученный из надземной части растения, собранного в природной популяции в фазу цветения [4]. Экстракт в дозе 0,5 мл/кг деалкоголизировали, растворяли в дистиллированной воде и вводили мышам внутривенно с помощью металлического зонда ежедневно на 21 сут после инъекции MNU: опытная группа. Животные патологического контроля получали дисциplinированную воду в эквивалентном объеме. Животных выводили из эксперимента передозировкой CO₂ в острой фазе воспаления на 35 сут эксперимента. Эффективность применяемого лечебного воздействия оценивали с помощью морфологически распознаваемых клеточных элементов в периферической крови и костном мозге, а также гистологических препаратов молочных желез животных. Концентрацию IL-1 β , TGF β , TNF α в гомогенате ткани молочных желез и сыворотке крови оценивали с помощью ИФА (согласно инструкции производителя «Cusabio Biotech CO., LTD»). Методом проточной цитофлюориметрии в ткани молочных желез и цельной крови оценивали содержание стволовых опухолевых клеток (CD44⁺CD24⁻) согласно ранее разработанным протоколам.

Результаты. На 35 сут эксперимента при морфологическом анализе ткани молочных желез мышей, которым вводили MNU наблюдалось развитие целого комплекса патологических изменений, которые соответствовали типичной картине развития хронического воспаления. При изучении экстракта *A. baikalense Stenb* на фоне развития хронического воспаления было показано, что курсовое введение растительного препарата снижало активность воспалительной реакции.

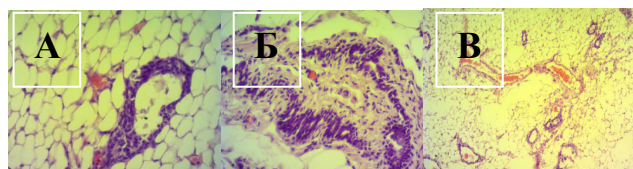


Рис. 1. Морфологическая картина молочных желез мышей линии BALB/C в условиях MNU-индуцированного воспаления на фоне курсового введения экстракта *A. baikalense Stenb*. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 300$, препараты изготовлены на 35 сутки эксперимента. А-контроль, Б-MNU, В-MNU+A. *baikalense Stenb*.

Анализ миелограмм животных в группе патологического контроля показал, увеличение количества основных клеток воспаления: зрелые нейтрофильные гранулоциты и лимфоцитов. В условиях курсового использования растительного экстракта на фоне хронического воспаления молочной железы, показано, снижение содержания в костном мозге количества незрелых нейтрофильных гранулоцитов (в 2,1 раза, $P < 0,01$) и лимфоцитов (в 1,8 раза, $P < 0,01$) относительно таковых показателей в группе патологического контроля. Описанным эффектам в костном мозге соответствовала картина периферической крови.

Из результатов ИФА следует, что инъекция канцерогена приводит к достоверному повышению уровня IL-1 β , TGF- β , TNF- α в 2,7, 11,25, 3,0 раза соответственно в сыворотке животных относительно таковых показателей в группе интактного контроля. Аналогичная картина наблюдалась в гомогенатах молочных желез мышей с воспалением. Применение экстракта *A. baikalense Stenb.* на фоне развития хронического воспаления изменило уровень провоспалительных (IL-1 β , TNF- α) и противовоспалительных (TGF- β) цитокинов в сыворотке крови и гомогенате молочных желез мышей.

Интересен тот факт, что на фоне развития воспаления, наблюдался рост числа стволовых опухолевых клеток в 1,9 раза ($p < 0,05$) в цельной крови и в 1,6 раза ($p < 0,05$) в ткани молочной железы у мышей. Включение экстракта *A. baikalense Stenb.* в схему лечения MNU-индуцированного воспаления приводит к снижению содержания стволовых опухолевых клеток в ткани молочной железы и цельной крови снизилось в 4,3 и 1,7 раза ($p < 0,05$) соответственно, относительно группы мышей с MNU-индуцированным воспалением.

Выводы. Курсовое внутрижелудочное введение мышам экстракта *A. baikalense Stenb.* в дозе 0,5 мл/кг на фоне развития MNU-индуцированного воспаления эпителия молочных желез приводит к снижению выраженности воспаления, а также уменьшению уровня IL-1 β , TNF- α и TGF- β и количества стволовых опухолевых клеток (CD44⁺CD24⁻) в периферической крови и молочной железе животных с MNU-индуцированным воспалением.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Арльт А.В., Савенко И.А., Сергиенко А.В., Ивашев М.Н. Побочные эффекты нестероидных противовоспалительных средств // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2013. – Т. 11. - № 1. – С. 13-15.
2. Карпова Г.В., Фомина Т.И., Ветошкина Т.В., Боровская Т.Г., Воронова О.Л., Дубская Т.Ю., Суслов Н.И., Абрамова Е.В., Лоскутова О.П., Шерстобоев Е.Ю., Пашинский В.Г., Поветьева Т. Н., Семенов А.А. Доклиническое токсикологическое изучение настойки аконита байкальского (баякона) // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2002. - Т. 65. - №3. - С. 62-65.
3. Faustino-Roch A. I., Ferreira R., Oliveira P. A., Gama A., Ginja M. (2015). N-Methyl-N-nitrosourea as a mammary carcinogenic agent. *Tumour Biol.*, v. 36, no. 12, pp. 9095-9117.
4. Поветьева Т.Н., Пашинский В.Г., Нестерова Ю.В., Пушкарский С.В., Гайдамович Н.Н., Семенов А.А., Жапова Ц., Погодаева Н.Н. Противометастатические свойства алкалоидов аконита байкальского // Сибирский онкологический журнал. - 2005. - №4. - С. 43-46.