



О.А. Струк, А.Р. Грицик, А.О. Клименко

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИПУХЛИННОЇ ДІЇ ЕКСТРАКТІВ ГАДЮЧНИКА ШЕСТИПЕЛЮСТКОВОГО

Івано-Франківський національний медичний університет

Ключові слова: екстракт, кореневиця з коренями гадючника шестипелюсткового, протипухлинна дія, асцитна карцинома Ерліха.

Ключевые слова: экстракт, корневища с корнями лабазника шестилепестного, противоопухолевое действие, асцитная карцинома Эрлиха.

Key words: aqueous rhizome, aqueous-alcoholic rhizome, rhizome with *Filipendula hexapetala* roots, antineoplastic action, ascitic carcinoma of Ehrlich.

Вивчено вплив екстрактів гадючника шестипелюсткового на розвиток експериментальної асцитної карциноми Ерліха й на тривалість життя мишей. Встановлено, що застосування водно-спиртового екстракту кореневищ з коренями гадючника шестипелюсткового забезпечує зменшення вмісту асцитної рідини в абдомінальній порожнині, цитотоксичну дію на ракові клітини, а також покращення показників кровотворення, сприяє збільшенню тривалості життя.

Изучено влияние экстрактов лабазника шестилепестного на развитие экспериментальной асцитной карциномы Эрлиха и на продолжительность жизни мышей. Установлено, что применение водно-спиртового экстракта корневищ с корнями лабазника шестилепестного обеспечивает уменьшение содержания асцитной жидкости в абдоминальной полости, цитотоксическое действие на раковые клетки, а также улучшение показателей кроветворения, способствует увеличению продолжительности жизни.

The influence of *Filipendula hexapetala* extracts on development of experimental Ehrlich ascitic carcinoma, on mice life duration were studied. It is detected that using of the aqueous-alcoholic rhizome extract with *Filipendula hexapetala* roots provides decreasing of the ascitic liquid in the abdominal cavity, cytotoxic effect on cancer cells, as well as improvement of blood formation indicators and increasing of life duration.

У науковій і народній медицині використовують відвар кореневищ з коренями гадючника шестипелюсткового, що проявляє протизапальну, в'яжучу та протипухлинну дію. Кореневище з коренями гадючника шестипелюсткового входить до складу збору №1 для виготовлення мікстури за прописом Здренко (симптоматичний засіб для лікування папіломатозу сечового міхура й антацидних гастритів), а також при захворюваннях шлунково-кишкового тракту, серцево-судинної системи, для лікування онкологічних захворювань [1–4]. Фармакологічна дія зумовлена наявністю дубильних речовин, флавоноїдів, гідроксикоричних та органічних кислот, аскорбінової кислоти.

МЕТА РОБОТИ

Вивчення протипухлинної дії спиртового та водного екстрактів кореневищ з коренями гадючника шестипелюсткового та вивчення їх впливу на розвиток експериментальної асцитної карциноми Ерліха у мишей і на тривалість життя тварин.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведено на білих нелінійних мишах, вирощених у віварії ІФНМУ, що були стандартизовані за фізіологічними й біохімічними показниками і перебували, згідно з вимогами санітарно-гігієнічних норм, на стандартному раціоні. Експерименти з тваринами поводили згідно Міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, використовуваних для експериментів та з іншими науковими цілями.

Весь практичний матеріал опрацьований методом варіаційної статистики з обчисленням середнього арифметичного і його стандартної похибки. Достовірність

порівнюваних величин оцінювали за критерієм Стьюдента, рівень імовірності прийнято за $p \leq 0,05$ [9].

Цитотоксичну дію водних і водно-спиртових екстрактів з кореневищ з коренями гадючника шестипелюсткового на клітини асцитного раку Ерліха у мишей вивчали за методикою Р.А. Шрека, запропонованою для первинного відбору речовин з протипухлинною дією [5,6]. Для дослідження забирали асцитну рідину на 7–8 день після інокуляції мишам пухлини Ерліха. До асцитної рідини додавали розчин водно-спиртового (ГШК-1) та водного (ГШК-2) екстрактів кореневищ з коренями гадючника шестипелюсткового на ізотонічному розчині NaCl і поміщали в термостат на 3 години. Паралельно проводили контрольний дослід. Після інкубації в термостаті додавали розчин еозину, що забарвлює мертві клітини в червоний колір. Живі ракові клітини залишаються прозорими. Через 5–10 хв краплю суміші поміщали в камеру Горяєва і підраховували кількість загиблих клітин у 10–20 полях зору. Кожний дослід повторювали 7 раз [7,8].

Асцитний рак Ерліха прищеплювали мишам шляхом введення в стерильних умовах в черевну порожнину асцитної рідини ($n=1 \cdot 10^6$ клітин пухлини Ерліха). Через 24 год після щеплення щоденно протягом 10 днів вводили інтраабдомінально 0,5 мл розчину водно-спиртового та водного екстракту кореневищ з коренями гадючника шестипелюсткового окремим групам тварин у дозі 50 мг/кг.

Дослідження проведено на 60 білих мишах вагою 20–24 г, розподілених на групи:

Ia – основна група, імплантовано карциному Ерліха, ліковані з застосуванням водно-спиртового екстракту кореневищ з коренями гадючника шестипелюсткового ($n=14$);



Ia – основна група, імплантовано карциному Ерліха, ліковані із застосуванням водного екстракту кореневищ з коренями гадючника шестипелюсткового (n=14);

IIIa – інтактні тварини, норма (n=10);

IV – контрольна, імплантовано асцитну карциному Ерліха, не ліковані (n=14);

Дослідження проводили в динаміці з визначенням показників на 7-й і 14-й день. Мишей присипляли під ефірним наркозом і забирали на дослідження асцитну рідину та кров. Визначали об'єм асцитної рідини до і після лікування. У крові досліджували вміст еритроцитів, лейкоцитів, гемоглобіну. На окремій групі мишей (n=30) з імплантованою карциномою Ерліха досліджували вплив лікування водно-спиртовим і водним екстрактами кореневищ з коренями гадючника шестипелюсткового на виживання й тривалість життя тварин.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Про цитолітичну дію досліджуваних екстрактів робили висновок на основі процентного вмісту мертвих клітин. Отримані результати наведено в *табл. 1*.

Таблиця 1

Цитотоксична дія екстрактів кореневищ з коренями гадючника шестипелюсткового на клітини асцитного раку Ерліха

Досліджуваний засіб	Доза, мг в 1 мл	Загибель ракових-клітин, %, $x \pm \Delta x$
ГШК-1	25	34,0±0,70
	50	66,0±0,70
	100	66,0±0,56
ГШК-2	25	18,0±0,84
	50	48,0±1,54
	100	49,0±1,68

Як видно даних *табл. 1*, найбільш вираженою цитотоксичною дією на ракові клітини характеризується водно-спиртовий екстракт кореневищ з коренями гадючника шестипелюсткового, який у дозі 50 мг викликає загибель 66% ракових клітин. Водний екстракт кореневищ з коренями в дозі 50 мг/кг викликає загибель ракових клітин на рівні 48%.

Результати впливу екстрактів гадючника шестипелюсткового на розвиток асцитної карциноми Ерліха наведено на *рис. 1*.

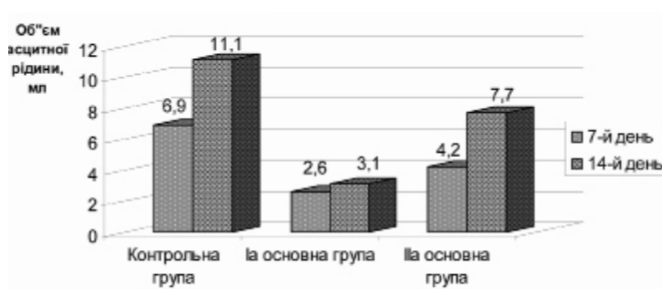


Рис. 1. Динаміка наростання кількості асцитної рідини.

Коефіцієнт гальмування росту асцитної карциноми Ерліха під впливом водно-спиртового екстракту кореневищ з коренями гадючника шестипелюсткового становив відповідно на 7-й день 62,3%, на 14-й – 65,8%.

Коефіцієнт гальмування росту під впливом водного екстракту кореневищ з коренями гадючника шестипелюсткового становив відповідно на 7-й день – 39,1%, на 14-й – 30,6%.

Отже, водно-спиртовий екстракт кореневищ з коренями гадючника шестипелюсткового при лікуванні асцитної карциноми Ерліха виявляє більш виражену протипухлинну дію.

Показники кровотворення в динаміці розвитку асцитної карциноми Ерліха в процесі лікування наведено в *табл. 2*.

Аналіз результатів показників вмісту еритроцитів, лейкоцитів і гемоглобіну (*табл. 2*) свідчить, що в процесі росту карциноми Ерліха у тварин контрольної групи, поряд з наростанням вмісту асцитної рідини в черевній порожнині, спостерігається достовірне зниження кількості еритроцитів і гемоглобіну крові на 7-й і на 14-й день дослідження, тоді як рівень лейкоцитів різко зростає і на кінець експерименту у 2,2 рази перевищував норму.

При лікуванні тварин Ia основної групи водно-спиртовим екстрактом кореневищ з коренями гадючника шестипелюсткового спостерігали нормалізацію вмісту еритроцитів і гемоглобіну вже на 7-й день, цей показник утримувався на такому рівні до кінця експерименту. Кількість лейкоцитів у крові нормалізувалась лише на 14-й день дослідження.

Лікування водним екстрактом кореневищ з коренями гадючника шестипелюсткового тварин IIa основної групи виявляло значно менший ефект. Досліджувані показники вмісту еритроцитів, лейкоцитів і гемоглобіну майже не відрізнялись від показників встановлених у контрольній групі тварин і на завершення експерименту до фізіологічної норми не повертались.

На окремій групі тварин (n=30) з імплантованою асцит-

Таблиця 2

Показники кровотворення в динаміці розвитку асцитної карциноми Ерліха в процесі лікування

Показники	Норма (n=10)	7-й день				14-й день		
		Контроль (n=7)	Основні групи		Контроль (n=7)	Основні групи		
			Ia (n=7)	IIa (n=7)		Ia (n=7)	IIa (n=7)	
Еритроцити, Т/л	9,82±0,07	7,40± 0,07*	8,95± 0,20	7,15± 0,16*	6,03± 0,4*	9,66± 0,16	6,28± 0,15*	
Лейкоцити, Г/л	7,40±0,16	14,60± 0,57*	11,80± 0,18*	16,10± 0,25*	16,30± 0,52*	8,50± 0,20	16,15± 0,41*	
Гемоглобін, Г/л	114,0±2,37	105,0± 2,93*	106,0± 2,79	104,0± 3,83*	102,0± 2,50*	112,0± 1,68	101,0± 5,48*	

Примітка: *P<0,05 – вірогідність різниці показників з величинами до норми.



Вплив екстрактів шестипелюсткового на об'єм асцитної рідини і тривалість життя тварин з імплантованою карциномою Ерліха

	Контрольна група		Ia основна		IIa основна	
	7-й день	14-й день	7-й день	14-й день	7-й день	14-й день
Об'єм асцитної рідини, мл	6,9±2,8	11,1±0,53	2,6±0,15	3,8±0,20	4,2±0,22	7,7±0,20
Тривалість життя						
Досліджуваний засіб	Кількість тварин	Результати спостереження				Вилікувано
		Повна відсутність пухлини	Загинуло тварин	Тривалість життя		
					дні	%
–	10	–	10	14,2±0,84	100	–
Екстракт ГШК-1	10	–	10	28,0±1,00	197,2	–
Екстракт ГШК-2	10	–	10	20,1±0,92	141,5	–

ною карциномою Ерліха досліджували вплив лікування водно-спиртовим та водним екстрактами кореневищ з коренями гадючника шестипелюсткового на виживання та тривалість життя піддослідних тварин. Результати наведено в *табл. 3*.

Отже, розвиток експериментальної асцитної карциноми Ерліха супроводжується зниженням вмісту еритроцитів, гемоглобіну й наростанням кількості лейкоцитів. Під впливом застосованого лікування мишей з імплантованою карциномою Ерліха з використанням водно-спиртового екстракту кореневищ з коренями гадючника шестипелюсткового спостерігалась нормалізація досліджуваних показників або тенденція до нормалізації більшості з них. На фоні покращення зазначених показників у тварин Ia основної групи коефіцієнт гальмування росту асцитної карциноми Ерліха становив на 7-му й 14-ту добу 62,3% і 65,8% відповідно. Застосування водного екстракту кореневищ з коренями гадючника шестипелюсткового у тварин IIa основної групи проявляло меншу ефективність на досліджувані показники. Так, коефіцієнт гальмування росту пухлини становив 39,1% на 7-му та 30,6% на 14-ту добу експерименту.

Коефіцієнт середньої тривалості життя у тварин з імплантованою карциномою Ерліха, лікованих водно-спиртовим екстрактом, зростав до 186,2%, тоді як під впливом лікування водним екстрактом він становив 141,4%.

ВИСНОВКИ

Отримані показники впливу екстрактів гадючника шестипелюсткового на розвиток імплантованої асцитної карциноми Ерліха у мишей свідчать, що застосування водно-спиртового екстракту кореневищ з коренями забезпечує

зменшення вмісту асцитної рідини в абдомінальній порожнині, інтенсивнішу цитотоксичну дію на ракові клітини, а також покращення показників кровотворення, антиоксидантної системи захисту та збільшення тривалості життя піддослідних тварин у 1,9 рази.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Собецкий В.В.* Нетрадиционные методы лечения рака / *Собецкий В.В.* – К.: Здоров'я, 1999. – 37 с.
2. *Беспалов В.Г.* Антиканцерогенные и противодиабетические свойства цветков *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim / *В.Г. Беспалов, А.Ю. Лимаренко, А.С. Петров и др.* // Растит. ресурсы. – 1993. – Т. 3, Вып. 1. – С. 9–18.
3. *Мансимова О.В.* Иммуномодулирующая активность лабазника шестилепестного: автореф. дисс. ... канд. мед. наук : спец. 14.00.36 / *О.В. Мансимова.* – Курский гос. мед. ун-т. – Курск, 1999. – 21 с.
4. *Гладун Я.Д.* Цитотоксическое и антибластическое действие лабазника шестилепестного на карциному Эрлиха и саркому Крокера / *Я.Д. Гладун* // Вопросы экспериментальной онкологии. – К., 1968. – Вып. 3. – С. 182–186.
5. *Вермель Е.М.* Контактный метод отбора противоопухолевых препаратов (на клетках асцитных опухолей) / *Е.М. Вермель, С.А. Сыркина-Кругляк* // Вопросы онкологии. – 1961. – Т. 8. – С. 73–82.
6. *Инжеваткин Е.В.* Практикум по экспериментальной онкологии на примере асцитной карциномы Эрлиха: Метод. разработка. – Красноярск: Краснояр. гос. ун-т., 2004. – 10 с.
7. Чувствительность клеток рака Эрлиха к красителям / [*Б.Е. Айзенман, Т.П. Мандрик, М.О. Швайгер, Е.А. Куприанова*] // Вопросы онкологии – 1961. – Т. 8. – С. 83–90.
8. *Базарнова М.А.* Руководство по клинической лабораторной диагностике / *Базарнова М.А.* – К.: Вища школа, 1982. – Ч. 2. – С. 35–40.
9. *Ланач С.М.* Статистичні методи в медико-біологічних дослідженнях із застосуванням Excel / *Ланач С.М., Чубенко А.В., Бабіч П.М.* – К.: МОПІОН, 2000. – 320 с.

Відомості про авторів:

Струк О.А., асистент каф. хімії фармацевтичного факультету ІФНМУ.

Грицик А.Р., д. фарм. н., професор, зав. каф. фармації ІФНМУ.

Клименко А.О., д. мед. н., професор каф. біологічної та медичної хімії з курсом фізколоїдної та біонеорганічної хімії ІФНМУ.

Адрес для переписки:

Струк Оксана Анатоліївна. 76018, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2, кафедра хімії фармфакультету.

Тел.: (0342) 50 27 20.