УДК 542.6, 541.18.045, 616.155.392.8

[1] Г.Т. Бари*, [1] А.Н. Жексенбай, [2] М.П. Даниленко, [1] К.Р. Утеулин

[1]РГП «Институт биологии и биотехнологии растений» КН МОН РК г. Алматы, Казахстан
[2]Университет им. Бен Гуриона, г. Беер Шева, Израиль
*e-mail: baracuda.com@mail.ru

Влияние экстрактов солодки на пролиферацию клеток миелоидной лейкемии линии HL60

Особый интерес вызывают противоопухолевая активность экстракта солодкового корня на примере миелоидной лейкемии человека. Проблема миелоидной лейкемии особо остро стоит в настоящее время в Казахстане. В данной статье представлены результаты исследований в которых экстракты солодки подавляют рост клеток лейкемии.

***Ключевые слова*:** Экстракт солодки, лейкемия, пролиферация.

Бари Ғ.Т., Жексенбай А.Н., Даниленко М.П., Утеулин Қ.Р.

Мия тамыр сығындысының миелойд лейкемия HL60 линия жасушаларының пролиферациясына әсері

Мия тамырының сығындысының миелойд лейкемиясына қарсы белсенділігіне қазіргі кезде қызығушылық өте көп. Сол себепті миелойдты лейкемия мәселесі қазіргі кезде Қазақстана күрделі мәселе болып түр. Мақалада мияның лейкемия жасушаларына қарсы әсері жайлы зерттеу нәтежелері берілген.

Түйін сөздер: мия экстрактысы, лейкемия, пролиферация.

G.T. Bari, A.N. Zheksenbay, M.P. Danilenko, K.R. Uteulin

Effect of the licorice extracts on HL60 cell line proliferation of the myeloid leukemia

Particular interest are the anticancer activity of licorice extract on human myeloid leukemia. Nowadays, the myeloid leukemia is serious problem in Kazakhstan. In this article described the results of studies in which licorice extracts inhibit the growth of leukemia cells.

***Keywords**:* licorice extract, myeloid leukemia, prolipheration.

В 60-х годах XX века была выявлена эстрогенная активность солодки в целом и субстанций, выделяемых из нее. В настоящее время эти исследования представлены на новом научно-техническом уровне.

Так, указан защитный эффект экстракта из солодки при воздействии на b-адренорецепторы у морских свинок [1].

За последнее время изучался механизм противоопухолевого действия, который заключается в ингибировании фосфотрансферазой активности протеинкиназы С, являющейся рецептором-промотором опухолей.

В связи с этим изучалось действие экстракта из солодки при остром поражении сурфактанта леких лабораторных животных при тотальном гамма-облучении [2]. Интересны обобщающие данные о возможных механизмах противоопухолевой активности субстанций из солодки [3]. Приведены сведения об использовании солодки в клинике при лечении различных воспалительных процессов в организме человека [4]. Препараты корня солодки и их компоненты обладают антиоксидантными и антирадикальными свойствами [5].

В ряде работ сообщаются данные об антиоксидантных свойствах солодки [6]. Сообщается о стойком увеличении активности применяемых препаратов в лабораторных опытах с мышами при введении водного экстракта из подземной части солодки голой [7].

Солодка, как лекарственное растительное сырье, находит широкое применение в лечебно-профилактических растительных сборах, а также в БАДах в качестве основного и неотъемлемого компонента. Предлагается использовать ГК в качестве неспецифического профилактического средства в отношении некоторых видов опухолей. Так, сообщается о глициризиновая кислота в качестве стимулятора апоптоза в спленоцитах мышей [8]. Приведены данные о глицирризине – ингибиторе TNF-стимулятора, а не Fas-

посредника, апоптоза в человеческой гепатобластоме линии HepG2 [9]. В работе [10] установлено, что глицирам в опытах на мышах является более эффективным стимулятором кроветворения после введения 5-ФУ и более слабым на фоне действия циклофосфан. Препараты из лекарственных растений (в т.ч. экстракт солодки и глицирам) в эксперименте на мышах с перевиваемой метастазирующей карциномой легких Льюис показали повышение противоопухолевой и противометастатической активности ЦФ и могут использоваться в качестве дополнительного средства [11].

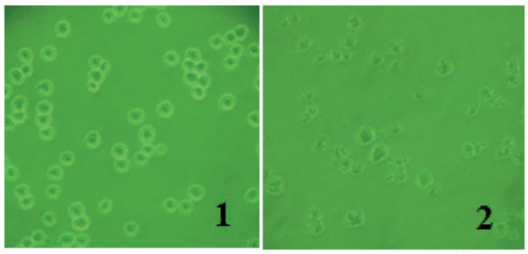
Материалы и методы

В опытах по определению клеточной пролиферации были использованы корневые экстракты (*Glycyrrhiza glabra* L.) в 50%, 80%, 100% этаноле и в 50% ацетоне.

Работы с клетками проводились согласно работе [12].

Результаты и их обсуждение

Для скрининга, клетки HL60 инкубировали с вышеописанными экстрактами в одной концентрации (100 мкг/мл) в течение 24-96 часов. Перед сбором проб для ручного или автоматического счета клеток планшеты помещали под микроскоп для визуального определения действия экстрактов на пролиферацию клеток. На рисунке 1 представлены результат после 24 часового инкубирования клеток с экстрактами. Как видно на рисунке 1, солодковый экстракт вызывает изменения клеток, они выглядят гранулированными и их количество уменьшается.



1 – контроль, 2 – с добавками 50%-го этанольного экстракта солодки 100мкг/мл

Рисунок 1 – Состояние клеток после 24 часового инкубирования

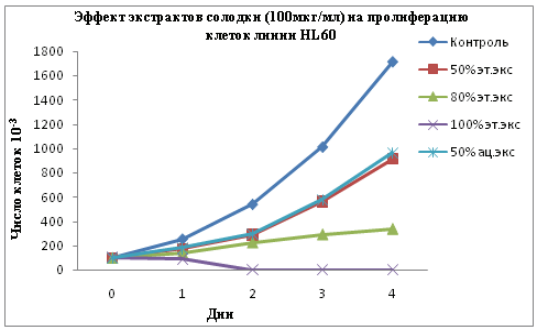


Рисунок 2 – Динамика роста клеток линии HL60 инкубированных с экстрактами солодки: эт.экс – этанольный экстракт, ац.экс – ацетоновый экстракт

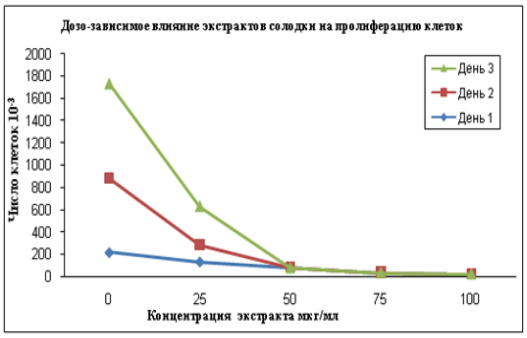


Рисунок 3 – Влияние повышающихся концентраций 50%-го этанольного экстракта солодки на пролиферацию клеток HL60 в зависимости от времени инкубации

Установлены отличия в действии этанольных экстрактов солодки от ацетонового экстракта. Так, 50% этанольный экстракт солодки после 24 часов инкубирования уменьшает количество клеток, после 48 часов – вызывает полную гибель клеток, и после 96 часов наблюдается агрегация клеточных остатков. Этанольный 50% экстракт солодки через 24 часа инкубирования эффекта не имеет, через 48 часов вызывает увеличение размера клетки. Возможно это связано с аутофагией, однако в нашем распоряжении пока нет прямых доказательств индукции этого процесса. Через 96 часов наличие "гигантских" клеток уже не наблюдается и имеет место лишь агрегация клеточных остатков.

По завершению счета клеток, была проведена обработка данных с построением графиков кривых роста клеток. На рисунке 2 представлена временная зависимость роста клеток, построенная на основании данных, полученных с использованием автомати-

ческого анализатора жизнеспособности клеток Vi-Cell.

Как видно из данных, представленных на рисунке 2, ацетоновый экстракт солодки имеет значительно меньший эффект, в сравнении с этанольными экстрактами.

Изучено влияние различных концентраций этанольных экстрактов (25, 50, 75, 100 мкг/мл) солодки на пролиферацию клеток миелобластного лейкоза (HL60). Показано, что при концентрациях ≥50 мкг/мл этанольного экстракта солодки прироста клеток практически нет (рисунок 3).

Можно рекомендовать для исследований концентрацию, обеспечивающую снижение числа клеток, по сравнению с контролем, на 50% (IC_{50}). На вторые и третьи сутки IC_{50} равна 15 мкг/мл. Для этанольного экстракта солодки показано, что на вторые и третьи сутки культивирования клеток наибольший угнетающий эффект на рост клеток имеет место при концентрации 100 мкг/мл. Так, величина IC_{50} для экстракта солодки составляет 25 мкг/мл. Эти результаты указывают на гораздо более высокую чувствительность клеток HL60 к 50% этанольному экстрактам солодки по сравнению с другими экстрактами.

Полученные данные свидетельствуют о мощном угнетающем действии этанольных экстрактов солодки на пролиферацию клеток миелобластного лейкоза человека. Однако, отличия в эффективных концентрациях экстрактов солодки показывают важность источника экстракта. Вероятно, концентрация физиологически активных веществ экстрактов солодки зависит от ее вида, характеристик почвы и многих других факторов.

Результаты исследований свидетельствуют о том, что экстракты солодки, как подавляющие рост клеток лейкемии, могут стать основой препаратов для терапии и профилактики онкологических заболеваний.

Литература

1 Zhao S., Wu H., and Cao Y. Protective effect of Glycyrrhiza uralensis Fisch and its extracts on the chronic desensitization of beta-adrenoceptors in guinea pigs // J.Chin.Mater.Medica. – 1991. – Vol.16. -N 6. – P.370-371, 384.

2 Палагина М.В., Хасина М.А., Гельцер Б.И., Девятов А.Л. Антиокислительное действие препарата солодки уральской при остром поражении сурфактата легких тотальным облучением // Вопр. медиц. химии. – 1995. – Т.41., вып.1. –С. 32-34.

3 Павлова С.И., Утешев Б.С., Сергеев А.В. Корень солодки. Возможные механизмы антитоксических, антиканцерогенных и противоопухолевых свойств (обзор) // Хим.- фармац. журн.2003. – Т.37. - № 6. –С. 36-39.

4 Liu Z-L., Tanaka S., Horigome H., et al. Induction of apoptosis in human lung fibroblasts and peripheral lymphocytes in vitro by Shosaiko-to derived phenolic metabolites // Biol. Pharm. Bull. – 2002. – Vol.25. -N1. –P.37-41.

5 Ли И.А., Попов А.М., Веселова О.Б. Экспериментальное изучение противоязвенных и антиоксидантных свойств экстракта из лекарственных растений // VII Междунар. съезд “Актуальн. Проблемы созд. нов. лек.препаратов природн.происхожд”/ НИИХ СпбГУ, – 2003. – С. 206-209.

6 Zhou Y., Xu R. Antioxidative effect of Chinese drugs // J.Chin.Mater.Medica. – 1991. – Vol.17. -N6. –P. 368-369, 373.

7 Dhingra D., Parle M., Kulkarni S.K. Memory enhancing activity of Glycyrrhiza glabra in mice // J. Ethnopharmacol. – 2004. – Vol.91. -N 2-3. –P. 361-365.

8 Horigome H., Homma M., Hirono T and Oka K. Glycyrhetinic acid iduced apoptosis in murine splenacytes // Biol.Pharm.Bull. – 2001. – Vol.24. -N 1. – P. 54-58.

9 Yoshikawa M., Toyohara M., Ueda S. Glycyrrhzin inhibits TNF-induced, but not fasmediated, apoptosis in the human hepatoblastoma line hepG2 // Biol. Pharm. Bull. – 1999. –Vol.22. -N 9. – P. 951-955.

10 Гольберг Е.Д, Дыгай А.М., Гольберг В.Е. Новые лекарственные препараты для терапии цитостатических гемодепрессий // 4 Рос.нац.конгр. Человек и лекарство: Тез.докл. –М., 1997. – С. 157.

11 Разина Т.Г., Зуева Е.П., Амосова Е.Н. и Крылова С.Г. Препараты из лекарственных растений как средства дополнительной терапии в экспериментальной онкологии // Эксперимент. и клинич. фармакол. 2000. – Т.63. - № 5. – С.59-61.

12 Michael Danilenko, Xuening Wang, George P. Studzinski Carnosic acid and promotion of monocytic differentiation of HL60-G cells initiated by other agents // Journal of the National Cancer Institute. – 2001. – Vol. 93. -No.16. – P. 1225 -1232.