

УДК 577.27:617.37:615.322

ВЛИЯНИЕ ПОЛИФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ *CARTHAMUS TINCTORIUS* И *CALENDULA OFFICINALIS* L., НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК В УСЛОВИЯХ ЦИТОСТАТИЧЕСКОЙ ИММУНОСУПРЕССИИ

Масная Н.В.¹, Исайкина Н.В.², Шерстобоев Е.Ю.¹, Калинкина Г.И.²

¹ НИИ фармакологии СО РАМН, г. Томск

² Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

РЕЗЮМЕ

Цель исследования – изучить влияние полифенольных соединений, выделенных из цветков сафлора красильного и календулы лекарственной, на функциональную активность иммунокомпетентных клеток в условиях цитостатической иммуносупрессии. Общепринятыми методами определяли общее количество спленоцитов; относительное (%) и абсолютное ($\cdot 10^6$) количество антителообразующих клеток (АОК) в селезенке мышей методом локального гемолиза по Cunningham. Оценивали влияние соединений природного происхождения на клеточный иммунный ответ в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). Фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов определяли методом, основанным на интенсивности захвата ими частиц туши. Изучали функциональную активность перитонеальных макрофагов с помощью НСТ-теста (спонтанного и стимулированного). Исследования были проведены на мышцах-самцах 1-й категории (конвенционные линейные мыши) линии СВА/СаЛас в возрасте 2–2,5 мес и массой тела 20–22 г.

После введения мышам линии СВА/СаЛас 5-дневным курсом в дозе 50 мг/кг массы тела полифенольных соединений, выделенных из цветков сафлора красильного и календулы лекарственной, наблюдалась стимуляция гуморального иммунного ответа (общее количество спленоцитов, количество антителообразующих клеток в селезенке) и функциональной активности перитонеальных макрофагов. Полифенольные соединения исследуемых объектов оказывают иммунокорректирующее действие на гуморальный иммунитет и функциональную активность перитонеальных макрофагов после однократной инъекции циклофосфана в дозе 250 мг/кг массы тела. Иммунотропное действие полифенольных соединений из сафлора красильного и календулы лекарственной превышает таковое у препарата сравнения – настойки эхинацеи пурпурной.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: иммунокомпетентные клетки, полифенольные соединения из растений, иммунотропное действие, мыши линии СВА/СаЛас.

Введение

Поиск препаратов, обладающих иммунотропной активностью, является перспективным направлением в современной терапии. В настоящее время наиболее широко применяются препараты на основе эхинацеи пурпурной (иммунал, иммунорм, «Доктор Тайсс настойка эхинацеи») [22]. Интерес также могут представлять вещества вторичного метаболизма растений – полифенольные и полисахаридные соединения, спектр фармакологической активности которых вклю-

чает антиоксидантное, антигипоксическое, противовирусное, противоопухолевое, противовоспалительное действие [18, 23]. Такие комплексы не вызывают привыкания, эффекта отмены препарата и могут применяться в течение длительного времени. Биологическая активность полифенольных соединений позволяет применять их и в качестве лекарственных средств, например некоторые катехины могут быть использованы как противоопухолевые препараты [8].

В онкологической практике применение противоопухолевых препаратов до сих пор остается одним из основных способов лечения. Часто возникающие осложнения (цитостатическая болезнь) являются следствием повреждения быстро обновляющихся

✉ Масная Наталья Владимировна, 8 (3822) 41-83-77; e-mail: nvm13@rambler.ru

клеточных систем, к которым относятся также кровяная и иммунная [4, 10]. Поэтому актуальным является поиск препаратов, способствующих восстановлению иммунитета и активизации репаративных процессов в тканях. Однако широкое применение синтетических иммуномодуляторов невозможно ввиду наличия у них большого числа побочных эффектов. Иммуностимулирующие препараты растительного происхождения благодаря наличию различных биологически активных веществ мягко воздействуют на организм и восстанавливают иммунитет, мобилизуют резервные механизмы защиты, повышают эффективность терапии [21, 22].

Цель исследования – изучить влияние полифенольных соединений, выделенных из цветков сафлора красильного и календулы лекарственной, на функциональную активность иммунокомпетентных клеток в условиях цитостатической иммуносупрессии.

Материал и методы

Исследования были проведены на 155 мышах-самцах линии СВА/СаЛас в возрасте 2–2,5 мес, массой тела 20–22 г. Животные 1-й категории (конвенциональные линейные мыши) получены из лаборатории экспериментального биомоделирования НИИ фармакологии СО РАМН (г. Томск) (сертификат имеется). Содержание животных осуществлялось в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (1986).

В работе использовали полифенольные соединения, которые были выделены на кафедре фармакогнозии с курсами ботаники и экологии Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск) из жидкого экстракта цветков сафлора красильного (полифенольные соединения сафлора (ПФС)) и цветков календулы лекарственной (ПФКл), полученных методом реперколяции с помощью 40%-го этанола, в соотношении 1 : 1. Стандартизацию экстрактов проводили по сухому остатку (ГФ Х1, т. 2, с. 160). Основными биологически активными веществами сафлора являются тритерпеновые сапонины, флавоноиды, изофлавоны, полисахариды, кумарины, пектиновые вещества [20]. Основными биологически активными веществами цветков календулы лекарственной являются флавоноиды: 3-О-гликозиды изорамнетина и кверцетина, астрагалин, гиперозид, изокверцитрин и рутин. Другими веществами являются полисахариды, тритерпеновые сапонины (2–10%) на основе олеаноловой кислоты (календулозиды), α - и β -амирины, люпеол и люпенон [25].

Исследуемые соединения (ПФС, ПФКл) вводили животным опытных групп (табл. 1) внутривентриально в течение 5 дней в дозе 50 мг/кг массы тела в объеме 0,2 мл дистиллированной воды. В качестве препарата сравнения использовали настойку эхинацеи пурпурной (НЭ) («ГаленоФарм», г. Санкт-Петербург, разрешена к применению на территории России, рег. № 000167.01-2000), которую перед применением подвергали деалкоголизации (разводили необходимым объемом настойки в 2 раза водой очищенной, упаривали в термостате при температуре 37 °С до сокращения объема в 4 раза). Применяли в дозе 50 мг/кг массы тела в объеме 0,2 мл воды очищенной (внутрижелудочно). Контрольные мыши получали соответствующий объем растворителя – воды очищенной (Р).

Для исследования гуморального иммунитета (определение общей клеточности селезенки (ОКС), количества антителообразующих клеток (АОК) в селезенке) животных иммунизировали корпускулярным тимусзависимым антигеном – эритроцитами барана (ЭБ) (ЗАО «ЭКОлаб», г. Электрогорск). ЭБ трижды отмывали стерильным физиологическим раствором и вводили однократно внутривентриально по 0,2 мл минимальной дозы ($5 \cdot 10^6$) антигена. Для изучения влияния курсового (5-дневного) введения полифенольных соединений на гуморальный иммунный ответ иммунизацию мышей проводили на 5-е сут их введения. Контрольными для данной группы животных являлись мыши, получившие только ЭБ.

Для моделирования иммуносупрессии животным вводили циклофосфан (ЦФ) («Биохимик», г. Саранск), который непосредственно перед применением растворяли в стерильном физиологическом растворе и вводили однократно внутривентриально в дозе 250 мг/кг массы тела, которая для мышей линии СВА/СаЛас является максимально переносимой (МПД) [1]. Мышам вводили тимусзависимый антиген (ЭБ) на 4-е сут после воздействия циклофосфана (для определения ОКС, количества АОК в селезенке). Контрольными для данной группы являлись животные, получившие ЦФ.

Для коррекции иммуносупрессии мышам, получившим однократно в МПД циклофосфан, вводили курсом (5 дней, со дня введения цитостатика) полифенольные соединения (ПФС, ПФКл) или препарат сравнения (НЭ) (для определения функциональной активности перитонеальных макрофагов; контрольными в данном случае были животные, получившие ЦФ) и иммунизировали на 4-е сут после введения цитостатика (для определения ОКС, количества АОК в селезенке; контрольные мыши в этом случае получили ЭБ совместно с ЦФ).

На 4-е, 7-е сут после иммунизации определяли общепринятыми методами [3] общее количество спленоцитов (ОКС, $\cdot 10^6$), а также относительное (%) и абсолютное ($\cdot 10^6$) количество АОК в селезенке мышей методом локального гемолиза [17]. Оценивали влияние соединений природного происхождения на клеточный иммунный ответ в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). При постановке реакции для сенсibilизации мышам вводили подкожно $1 \cdot 10^7$ эритроцитов барана в объеме 100 мкл. Разрешающую дозу антигена ($1 \cdot 10^8$ в объеме 20 мкл) вводили на 5-е сут после сенсibilизации под апоневротическую пластинку одной из задних конечностей. В контралатеральную лапу в качестве контроля вводили физиологический раствор в таком же объеме. Учет интенсивности воспалительной реакции осуществляли через 24 ч после введения разрешающей дозы антигена. Индекс воспаления (ИВ) определяли

по разнице массы опытной (О) и контрольной (К) лап: $ИВ = ((О - К)/К) \cdot 100\%$. Полифенольные соединения вводили 5-дневным курсом мышам до сенсibilизации (I схема ГЗТ) – для изучения их влияния на процесс образования клона антиген-специфических Т-лимфоцитов. Либо полифенольные соединения вводили

5-дневным курсом со дня сенсibilизации до введения разрешающей дозы (II схема ГЗТ) – для изучения их влияния на способность Т-лимфоцитов при встрече с антигеном продуцировать провоспалительные цитокины [12]. Фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов определяли методом, основанным на интенсивности захвата ими частиц туши [11]. Изучали функциональную активность перитонеальных макрофагов с помощью теста с нитросиним тетразолием (НСТ) (спонтанного и стимулированного) [26].

Схема эксперимента представлена в табл. 1.

Таблица 1

Схема эксперимента					
Группы животных и манипуляции с ними			Сутки исследования	Количество животных	Исследование
Растворитель (5 сут)	+ЭБ в дозе $5 \cdot 10^6$ однократно (на 5-е сут после Р)	–	4-е, 7-е сут после иммунизации	10 (5 + 5)	Гуморальный иммунитет (ОКС, АОК в селезенке)
ПФС в дозе 50 мг/кг массы тела (5 сут) (ОГ1)	+ЭБ в дозе $5 \cdot 10^6$ однократно (на 5-е сут после ПФС)	–	4-е, 7-е сут после иммунизации	10 (5 + 5)	
ПФКл в дозе 50 мг/кг массы тела (5 сут) (ОГ2)	+ЭБ в дозе $5 \cdot 10^6$ однократно (на 5-е сут после ПФКл)	–	4-е, 7-е сут после иммунизации	10 (5 + 5)	
НЭ в дозе 50 мг/кг массы тела (5 сут)	+ЭБ в дозе $5 \cdot 10^6$ однократно (на 5-е сут после НЭ)	–	4-е, 7-е сут после иммунизации	10 (5 + 5)	
ЦФ однократно в МПД	+Р (5 сут с 1-х сут после введения ЦФ)	+ЭБ в дозе $5 \cdot 10^6$ однократно (на 5-е сут после Р)	4-е сут после иммунизации	5	Клеточный иммунитет (I схема ГЗТ)
ЦФ однократно в МПД	+ПФС в дозе 50 мг/кг массы тела (5 сут с 1-х сут после введения ЦФ)	+ЭБ в дозе $5 \cdot 10^6$ однократно (на 5-е сут после ПФС)	4-е сут после иммунизации	5	
ЦФ однократно в МПД	+ПФКл в дозе 50 мг/кг массы тела (5 сут с 1-х сут после введения ЦФ)	+ЭБ в дозе $5 \cdot 10^6$ однократно (на 5-е сут после ПФКл)	4-е сут после иммунизации	5	
ЦФ однократно в МПД	+НЭ в дозе 50 мг/кг массы тела (5 сут с 1-х сут после введения ЦФ)	+ЭБ в дозе $5 \cdot 10^6$ однократно (на 5-е сут после НЭ)	4-е сут после иммунизации	5	
Растворитель (5 сут)	(Сенсibilизация (СД) ЭБ подкожно $1 \cdot 10^7$ (на 5-е сут)	Разрешающая доза ЭБ ($1 \cdot 10^8$) (на 5-е сут после СД)	Через 24 ч после РД	5	
ПФС в дозе 50 мг/кг массы тела (5 сут) (ОГ1)	Сенсibilизация (СД) ЭБ подкожно $1 \cdot 10^7$ (на 5-й сут)	Разрешающая доза ЭБ ($1 \cdot 10^8$) (на 5-е сут после СД)	Через 24 ч после РД	5	
ПФКл в дозе 50 мг/кг массы тела (5 сут) (ОГ2)	Сенсibilизация (СД) ЭБ подкожно $1 \cdot 10^7$ (на 5-е сут)	Разрешающая доза ЭБ ($1 \cdot 10^8$) (на 5-е сут после СД)	Через 24 ч после РД	5	
Сенсibilизация (СД) ЭБ подкожно $1 \cdot 10^7$	Растворитель (5 сут со дня введения СД)	Разрешающая доза ЭБ ($1 \cdot 10^8$) (на 5-е сут после СД)	Через 24 ч после РД	5	Клеточный иммунитет (II схема ГЗТ)
Сенсibilизация (СД) ЭБ подкожно $1 \cdot 10^7$	ПФС в дозе 50 мг/кг массы тела (5 сут со дня введения	Разрешающая доза ЭБ ($1 \cdot 10^8$) (на 5-е сут после	Через 24 ч после РД	5	

		СД)	СД)				
Окончание табл. 1							
Группа животных				Сутки исследования	Количество животных	Исследование	
Растворитель (Р) (5 сут)	–	–	–	На 6-е сут после начала введения Р	5	Функциональная активность перитонеальных макрофагов в НСТ-тесте (спонтанный, стимулированный)	
ПФС в дозе 50 мг/кг массы тела (5 сут) (ОГ1)	–	–	–	На 6-е сут после начала введения ПФС	5		
ПФКл в дозе 50 мг/кг массы тела (5 сут) (ОГ2)	–	–	–	На 6-е сут после начала введения ПФКл	5		
НЭ в дозе 50 мг/кг массы тела (5 сут)	–	–	–	На 6-е сут после начала введения НЭ	5		
ЦФ однократно в МПД	+Р (5 сут с первого дня после введения ЦФ)	–	–	На 6-е сут после начала введения Р	5		
ЦФ однократно в МПД	+ПФС в дозе 50 мг/кг массы тела (5 сут с первого дня после введения ЦФ)	–	–	На 6-е сут после начала введения ПФС	5		
ЦФ однократно в МПД	+ПФКл в дозе 50 мг/кг массы тела (5 сут с первого дня после введения ЦФ)	–	–	На 6-е сут после начала введения ПФКл	5		
ЦФ однократно в МПД	+НЭ в дозе 50 мг/кг массы тела (5 сут с первого дня после введения ЦФ)	–	–	На 6-е сут после начала введения НЭ	5		
Растворитель (5 сут)	–	–	–	На 6-е сут после начала введения Р	5		Фагоцитарная активность перитонеальных макрофагов в тесте с тушью
ЦФ однократно в МПД	+Р (5 сут с первого дня после введения ЦФ)	–	–	На 6-е сут после начала введения Р	5		
ЦФ однократно в МПД	+ПФС в дозе 50 мг/кг массы тела (5 сут с первого дня после введения ЦФ)	–	–	На 6-е сут после начала введения ПФС	5		
Растворитель (5 сут)	–	–	–	На 30-е сут после начала введения Р	5		
ЦФ однократно в МПД	+Р (5 сут с первого дня после введения ЦФ)	–	–	На 30-е сут после начала введения Р	5		
ЦФ однократно в МПД	+ПФС в дозе 50 мг/кг массы тела (5 сут с первого дня после введения ЦФ)	–	–	На 30-е сут после начала введения ПФС	5		

Примечание. ОГ – опытная группа.

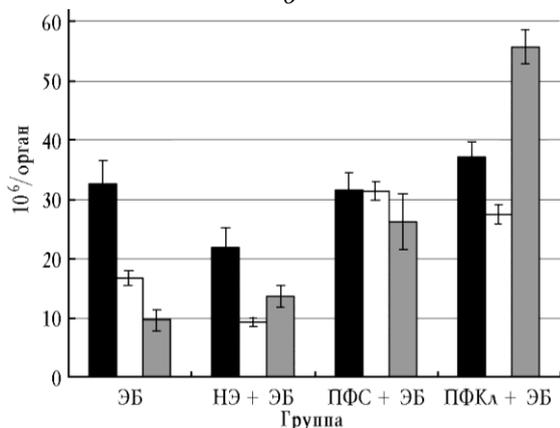
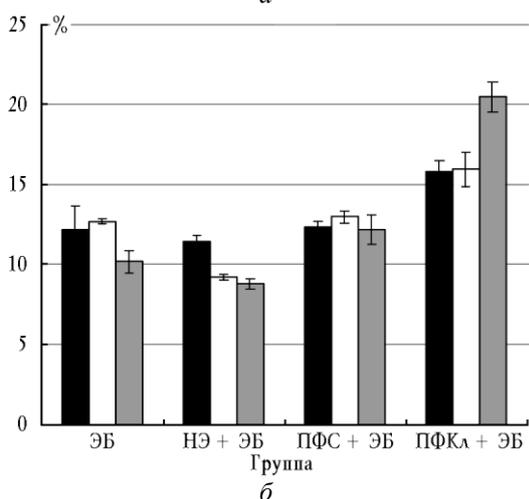
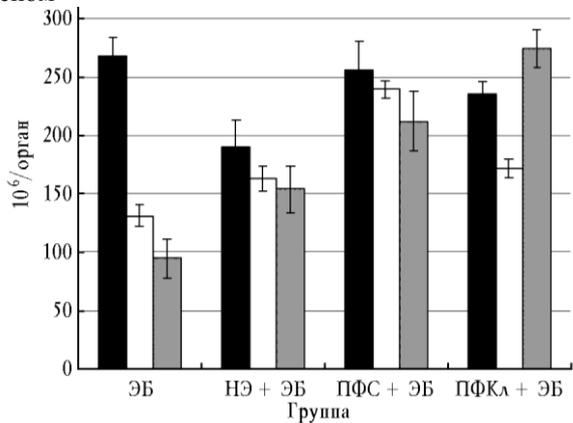
Полученные данные обрабатывали статистически с помощью программного обеспечения Statistica 6.0. Для всех выборок проверена гипотеза нормальности распределения по величине коэффициента асимметрии и коэффициента эксцесса. Для каждой выборки вычисляли среднее значение величины признака X и ошибку средней величины m . Проверку гипотезы о равенстве средних проводили с использованием t -критерия Стьюдента. Уровень значимости критериев задавали равным 0,1; 1 либо 5%, Statistica for Windows [2].

Результаты

В результате проведенных экспериментов было выявлено, что после курсового введения ПФС на 4-е сут эксперимента ОКС (рис. 1,а) и АОК (рис. 1,б) в селезенке мышей не отличались от показателей в группе

контроля (ЭБ) и превышали таковые в группе животных, получавших НЭ ($p \leq 0,05$ и $p \leq 0,05$ соответственно). На 7-е сут исследования отмечалось увеличение ОКС и абсолютного количества АОК относительно группы контроля (ЭБ) ($p \leq 0,001$; $p \leq 0,001$ соответственно) и группы сравнения (НЭ) ($p \leq 0,001$ и $p \leq 0,001$ соответственно) (рис. 1,а,б). После курсового введения ПФКл было выявлено увеличение по сравнению с контролем (ЭБ) относительного и абсолютного числа АОК в селезенке на 4-е ($p \leq 0,05$; $p \leq 0,001$ соответственно) и 7-е ($p \leq 0,05$ и $p \leq 0,001$ соответственно) сутки после иммунизации. Данные показатели также были выше, чем в группе животных, получивших НЭ на 4-е ($p \leq 0,05$ и $p \leq 0,001$ соответственно) и 7-е ($p \leq 0,001$ и $p \leq 0,001$ соответственно) сутки после антигенного воздействия (рис. 1,б,в).

При изучении влияния ПФС на разные стадии клеточного иммунного ответа в реакции ГЗТ [12] было выявлено, что введение ПФС не оказывало действия на процесс образования клона антигенспецифических Т-лимфоцитов (I схема ГЗТ) и снижало продукцию ими провоспалительных цитокинов при встрече с антигеном



- На 4-е сут после иммунизации эритроцитами барана
- На 7-е сут после иммунизации эритроцитами барана
- На 4-е сут после иммунизации эритроцитами барана, введенными на 4-е сут после однократной инъекции циклофосфана в МПД

в

Рис. 1. Влияние полифенольных соединений из сафлора красильного и календулы лекарственной на общее число спленоцитов (а), относительное (б) и абсолютное (в) число АОК в селезенке: ЭБ – группа, получившая эритроциты барана и растворитель; НЭ + ЭБ – группа, получившая настойку эхинацеи пурпурной и эритроциты барана; ПФС + ЭБ – группа, получившая полифенольные соединения из сафлора красильного и эритроциты барана; ПФКл + ЭБ – группа, получившая полифенольные соединения из календулы лекарственной и эритроциты барана

(II схема ГЗТ) (табл. 2). После курсового введения ПФКл не обнаружено значимых изменений в процессе образования клона антиген-специфических Т-лимфоцитов (табл. 2).

Таблица 2

Влияние полифенольных соединений из сафлора красильного и календулы лекарственной на клеточный иммунитет мышей линии СВА/СаЛас по реакции гиперчувствительности замедленного типа (ИВ) ($X \pm m$)

Группа мышей	ИВ, % (I схема)	ИВ, % (II схема)
Фон (растворитель)	12,54 ± 1,54	18,05 ± 1,04
ПФС	17,11 ± 2,92	8,04 ± 1,35 $p_1 \leq 0,001$
ПФКл	15,18 ± 1,94	

В результате проведенных исследований выявлено, что курсовое введение животным ПФС приводило к увеличению функциональной активности перитонеальных макрофагов при спонтанном НСТ-тесте до 43,8% ($p < 0,001$ в сравнении с контрольной группой мышей, получивших только растворитель), которая была на уровне таковой в группе, получавшей препарат сравнения – НЭ (рис. 2). При восстановлении НСТ в присутствии пирогенала степень функциональной активности макрофагов перитонеального экссудата мышей, получивших ПФС, повышалась до 53,8% ($p < 0,001$ в сравнении с контрольной группой) и находилась на уровне этого показателя в группе с применением НЭ (рис. 2). Введение животным ПФКл приводило к увеличению функциональной активности перитонеальных макрофагов в спонтанном НСТ-тесте до 40% ($p < 0,001$ в сравнении с контрольной группой), что было ниже, чем в группе сравнения (НЭ) ($p < 0,05$) (рис. 2).

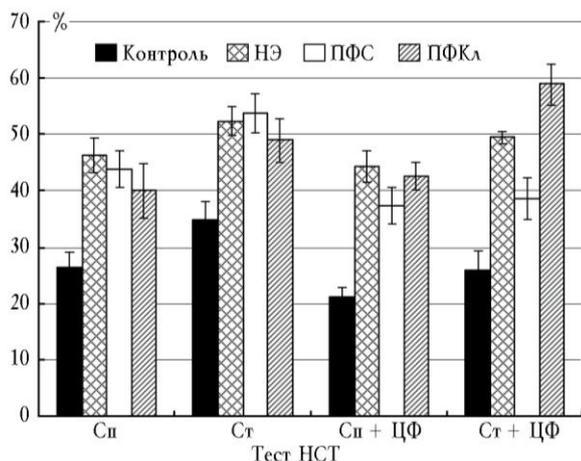


Рис. 2. Влияние полифенольных соединений из сафлора красильного и календулы лекарственной на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов (Г) в НСТ-тесте: Sp – спонтанный; St – стимулированный тест; Sp + ЦФ – спонтанный тест после введения циклофосфана; St + ЦФ – стимулированный тест после введения циклофосфана

В стимулированном НСТ функциональная активность перитонеальных макрофагов составляла 49% ($p < 0,001$ в сравнении с контрольной группой), что сопоставимо по уровню с показателем в группе с введением НЭ (рис. 2).

У мышей, получивших курсом ПФС после инъекции циклофосфана в МПД, наблюдалось увеличение общего числа спленоцитов, повышение количества АОК в селезенке относительно группы контроля, животным которой вводили циклофосфан ($p < 0,001$ и $p < 0,001$ соответственно) и группы сравнения с введением настойки эхинацеи пурпурной и циклофосфана ($p < 0,001$; $p < 0,01$ соответственно) (рис. 1,а,в). У животных, получивших ПФКл после введения противоопухолевого препарата, было выявлено увеличение ОКС, относительного и абсолютного содержания АОК в селезенке как в сравнении с груп-

пой контроля (ЦФ) ($p < 0,001$; $p < 0,001$ и $p < 0,001$ соответственно), так и с группой сравнения (НЭ + ЦФ) ($p < 0,01$; $p < 0,01$ и $p < 0,01$ соответственно) (рис. 1).

После 5-дневного курсового введения ПФС, следующего за однократной инъекцией циклофосфана в МПД, относительное и абсолютное содержание фагоцитирующих клеток в перитонеальном экссудате (ПЭ) превышало таковое в группе с применением ЦФ (табл. 3). Фагоцитарный индекс в опытной группе (ПФС + ЦФ) также был выше, чем у мышей, получивших цитостатик (табл. 3).

На 30-е сут после введения циклофосфана в опытной группе (ПФС + ЦФ) наблюдалось увеличение относительного и абсолютного количества фагоцитирующих клеток в перитонеальном экссудате и количества поглощенной туши в сравнении с группой, получившей только циклофосфан (табл. 4).

Введение ПФС на фоне цитостатической иммуносупрессии, вызванной введением циклофосфана в МПД, приводило к увеличению уровня спонтанного НСТ-теста до 37,4% ($p < 0,001$ относительно группы мышей, получивших только цитостатик) (рис. 2). Восстанавливать нитросиний тетразолий оказались способны 38,6% ($p < 0,001$ в сравнении с группой, получившей ЦФ) перитонеальных макрофагов животных, получивших ПФС после введения циклофосфана (рис. 2). Введение ПФКл на фоне цитостатической иммуносупрессии приводило к увеличению уровня спонтанного НСТ-теста до 42,6% ($p < 0,001$ относительно группы мышей, получивших только цитостатик) и соответствовало таковому при введении НЭ (рис. 2). Восстанавливать НСТ оказались способны 59% активированных макрофагов животных, получивших ПФКл после введения циклофосфана ($p < 0,001$ по сравнению с группой с ЦФ), что превышало этот показатель в группе с применением НЭ ($p < 0,01$) (рис. 2).

Таблица 3

Влияние полифенольных соединений из сафлора красильного на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов мышей линии СВА/СаЛас на 6-е сут после введения циклофосфана в МПД ($X \pm m$)					
Группа мышей	Количество клеток в ПЭ, млн	Содержание фагоцитирующих клеток		Количество туши, поглощенной клетками ПЭ, ед. абсорбции	Фагоцитарный индекс
		%	Абс., млн		
Контроль (растворитель)	0,96 ± 0,11	56,00 ± 4,44	0,53 ± 0,05	0,690 ± 0,20	1,25 ± 0,31
ЦФ + Р	0,48 ± 0,07*	39,40 ± 2,69*	0,19 ± 0,03*	0,099 ± 0,00*	0,59 ± 0,12
ПФС + ЦФ	0,58 ± 0,10*	58,80 ± 4,87#	0,35 ± 0,08	0,584 ± 0,13#	1,68 ± 0,12#

Примечание. Здесь и в табл. 4 # – сравнение с группой мышей, получивших циклофосфан ($p_1 \leq 0,05$), * – с контролем (животные, получившие растворитель в равном объеме) ($p_1 \leq 0,05$).

Влияние полифенольных соединений из сафлора красильного на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов мышей линии СВА/СаЛас на 30-е сут после введения циклофосфана в МПД ($X \pm m$)					
Группа мышей	Количество клеток ПЭ, млн	Содержание фагоцитирующих клеток		Количество туши, поглощенное клетками ПЭ, ед. абсорбции	Фагоцитарный индекс
		%	Абс., млн		
Контроль (растворитель)	0,96 ± 0,11	56,00 ± 4,44	0,53 ± 0,05	0,69 ± 0,20	1,25 ± 0,31
ЦФ + Р	1,38 ± 0,24	27,43 ± 1,70*	0,38 ± 0,07	0,245 ± 0,03	0,72 ± 0,16
ПФС + ЦФ	1,78 ± 0,14	54,98 ± 2,82 [#]	0,97 ± 0,07 [#]	0,42 ± 0,05 [#]	0,39 ± 0,04

Обсуждение

Известно, что введение цитостатиков, в том числе и циклофосфана, может подавлять пролиферацию и дифференцировку любых быстро делящихся клеток, например иммунокомпетентных [4]. По данным литературы, после введения препаратов природного происхождения наблюдается ускорение процессов репарации [16, 29], возможно, полифенольные соединения действуют так же. Кроме того, известно, что введение циклофосфана приводит к истощению внутриклеточных запасов восстановленного глутатиона с последующим повреждением всей системы антиоксидантной защиты клеток, в том числе и иммунокомпетентных. Это ведет к усилению перекисного окисления липидов, образованию токсических продуктов, нарушению обмена веществ в клетках, снижению их функциональной активности вплоть до гибели [14].

Существуют данные о том, что полифенольные соединения способны улавливать свободные радикалы кислорода, замедлять окисление липопротеидов, стабилизировать мембраны клеток, замедлять интенсивность радикальных реакций. Непосредственное антиоксидантное действие полифенолов реализуется за счет трех основных механизмов – образования стабильного комплекса с активными радикалами, ингибирование индуцированной NO-синтазы, снижения активности ксантинооксидазы, каталазы, глутатионпероксидазы и СОД в плазме крови. Также важным свойством полифенолов является способность образовывать комплексы с ионами металлов благодаря наличию нескольких соседних фенольных гидроксиллов, так называемых потенциальных центров комплексообразования. Железохелатирующая способность полифенолов также считается одним из механизмов антиоксидантного действия. Это приводит к уменьшению активности и концентрации образующихся токсических перекисных продуктов. Стимулируя репаративные процессы в клетках и тканях, стабилизируя биологические мембраны клеток, ингибируя ПОЛ в мембранах и предотвращая глубокие деструктивные

изменения в клетках, полифенольные соединения способствуют восстановлению их функций [13, 24, 28, 30].

Предполагается, что антиоксидантное свойство веществ полифенольной структуры является одним из основных неспецифических механизмов реализации многих фармакологических эффектов. Существует также ряд данных, свидетельствующих о специфическом воздействии полифенолов на иммунную систему. Так, водорастворимый полифенольный экстракт из пятилистника кустарникового способен увеличивать антителообразующую активность клеток селезенки мышей, иммунизированных эритроцитами барана, увеличивать клеточный ответ иммунной системы, а также эффективен в профилактике вирусной инфекции Коксаки как в культуре клеток, так и в экспериментах *in vivo* [6, 7]. Полифенольный экстракт бадана в эксперименте нормализует содержание антителообразующих клеток селезенки мыши при иммунодепрессии, снижает выраженность воспалительных процессов в условиях реакции гиперчувствительности замедленного типа, препятствуя накоплению Т-лимфоцитов в очаге воспаления и подавляя способность этих клеток продуцировать провоспалительные цитокины. Длительное применение флавоноидов из расторопши пятнистой при алкогольной болезни печени угнетает активность цитотоксических CD8⁺-лимфоцитов, уменьшает продукцию γ -глобулинов и увеличивает скорость бласттрансформации лимфоцитов [13].

Высокая противовоспалительная эффективность полифенолов объясняется множеством «точек приложения» их действия к развивающемуся процессу воспаления; считается, что одним из главных механизмов является ингибирование провоспалительных ферментов – ЦОГ, ЛОГ, иСОА, НАДФ-Н-оксидазы и фосфолипазы А2 [9, 15, 27, 31]. С другой стороны, антиоксидантная и хелатирующая активность полифенолов сама по себе способствует уничтожению свободных радикалов, пероксидов и альдегидов. Также полифенолы взаимодействуют с некоторыми ядерными рецепторами, такими как ЭР и рецепторы пе-

роксисомального активатора (PPAR), которые регулируют транскрипцию генов и способствуют ингибированию воспалительных реакций. В результате этих взаимодействий снижается количество медиаторов воспаления, метаболитов окисленной арахидоновой кислоты, АФК и АФА, а также провоспалительных цитокинов ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО- α , синтезируемых в ответ на активацию NF κ B, а также лейкоцитарных хемокинов (ИЛ-8/CXCL8, IP-10/CXCL10, MCP-1/CCL2, RANTES/CCL5 и GM-CSF). Эксперименты на кератиноцитах показали, что полифенолы (такие как силимарин, ресвератрол, ЭГКГ или содержащиеся в экстракте плодов граната) снижают также УФ-В-зависимую активацию NF κ B [9, 15, 27, 31].

В представленном случае усиление функциональной активности макрофагов после курсового введения ПФ соединений обусловлено, вероятно, тем, что, как известно, полифенольные соединения могут приводить к повышению активности миелопероксидазы и продукции оксида азота, участвующих в кислород-зависимом фагоцитозе [30]. Известно также, что полифенольные соединения могут выступать как прооксиданты, могут окисляться с образованием фенольных радикалов, супероксидных радикалов и перекиси водорода. Возможно, полифенольными прооксидантами компенсаторно активируется первая линия антиоксидантной защиты, осуществляющая детоксикацию активных форм кислорода каталазой, ГП и СОД [5, 19, 28, 30].

Иммунокорректирующие свойства полифенольных соединений из цветков сафлора красильного и цветков календулы лекарственной обусловлены, по всей видимости, всеми вышеперечисленными эффектами, свойственными ПФС, в состав которых входят биологически активные вещества, такие как флавоноиды, кумарины, тритерпеновые сапонины [20, 25].

Выводы

1. Курсовое введение мышам линии СВА/СаLac полифенольных соединений, полученных из цветков сафлора красильного (*Carthamus tinctorius*), оказывает стимулирующее влияние на гуморальный иммунный ответ и функциональную активность перитонеальных макрофагов.

2. Влияние полифенольных соединений, выделенных из сафлора красильного, на функциональную активность перитонеальных макрофагов в спонтанном НСТ-тесте сопоставимо по выраженности с таковым у фармакопейной настойки эхинацеи пурпурной, а на гуморальный иммунитет – превышает.

3. Полифенольные соединения, выделенные из сафлора красильного, обладают иммунокорректиру-

ющим действием на гуморальный иммунитет и функциональную активность перитонеальных макрофагов, подавленные после однократного введения циклофосфана в МПД, причем их влияние на гуморальный иммунитет проявляется в большей степени, чем у фармакопейной настойки эхинацеи пурпурной.

4. Курсовое введение полифенольных соединений, полученных из цветков календулы лекарственной (*Calendula officinalis*), стимулирует гуморальный иммунный ответ в большей степени, чем препарат сравнения (настойка эхинацеи пурпурной).

5. Функциональная активность перитонеальных макрофагов в спонтанном и стимулированном тесте НСТ после введения полифенольных соединений календулы сопоставима по выраженности с таковой у фармакопейной настойки эхинацеи пурпурной.

6. Введение полифенольных соединений, полученных из цветков календулы лекарственной, способствует коррекции иммуносупрессии, вызванной введением циклофосфана. Их действие на гуморальный иммунитет превышает таковое у настойки эхинацеи пурпурной.

7. Активация спонтанного НСТ-теста полифенольными соединениями календулы после введения циклофосфана проявилась в той же степени, стимулированного – в большей степени, чем настойкой эхинацеи пурпурной.

Литература

1. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л.: Медгиз, 1963. 152 с.
2. Боровиков В.П., Боровиков И.П. Statistica – статистический анализ и обработка данных в среде Windows. М.: Филинь, 1997. 608 с.
3. Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Шахов В.П. Методы культуры ткани в гематологии. Томск: Изд-во Том. ун-та, 1992. 272 с.
4. Дыгай А.М., Жданов В.В. Теория регуляции кроветворения. М.: Изд-во РАМН, 2012. 140 с.
5. Зайцев В.Г. Модельные системы перекисного окисления липидов и их применение для оценки антиоксидантного действия лекарственных препаратов: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Волгоград, 2001. 23 с.
6. Евстропов А.Н., Бурова Л.Г., Грек О.Р., Захарова Л.Н., Волхонская Т.А. Применение полифенольного комплекса из пятилистника кустарникового для профилактики Коксаки-вирусной инфекции // Бюл. сиб. медицины. 2002. Т. 1, № 4. С. 115–116.
7. Евстропов А.Н., Бурова Л.Г., Орловская И.А. и др. Противовирусная и иммуностимулирующая активность полифенольного комплекса, экстрагированного из пятилистника кустарникового (*Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz) // Вопр. вирусологии. 2004. Т. 49, № 6. С. 30–33.
8. Еришов Д.С., Зырянова И.М., Пастон С.В., Касьяненко Н.А. Изучение радиопротекторных свойств катехина при гамма- и УФ-облучении растворов ДНК // Вестн. СПб. ун-та. Сер. 4: Физика, химия. 2007. Вып. 2. С. 3–9.

9. Костюк В.А., Потапович А.И. Биорадикалы и биоантиоксиданты. Минск: БГУ, 2004. 179 с.
10. Микуляк Н.И., Микуляк А.И., Гольдхауэр С.А. Цитостатическая болезнь и перекисное окисление липидов // Вестн. Рос. ун-та дружбы народов. Сер.: Медицина. 2009. № 4. С. 87–89.
11. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под об. ред. чл.-кор. РАМН, проф. Р.У. Хабриева. 2-изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2005. 832 с.
12. Хаитов Р.В., Гуцин И.С., Пинегин Б.В., Зебрев А.И. // Ведомости Фармакологического комитета. 1999. №1. С. 34.
13. Цыдендамбаев П.Б., Хышиктуев Б.С., Николаев С.М. Биологические эффекты флавоноидов // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. 2006. № 6 (52). С. 229–233.
14. Asiri Y.A. Probuco Attenuates Cyclophosphamide-induced Oxidative Apoptosis, p53 and Bax Signal Expression in Rat Cardiac Tissues // Oxid. Med. Cell. Longev. 2010. Sep.–Oct. V. 3, № 5. P. 308–316.
15. Bharat B. Aggarwal, Shishir Shishodia Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer // Biochemical Pharmacology. 2006. 71. P. 1397–1421.
16. Chen J.R., Yang Z.Q., Wang L., Wang M. Immunomodulatory activity *in vitro* and *in vivo* of polysaccharide from *Potentilla anserina* // Fitoterapia. 2010. Dec. V. 81, № 8. P. 1117–1124.
17. Cunningham A.J. A method of increased sensitivity for detecting single antibodyforming cells // Nature. 1965. V. 207, № 5001. P. 1106–1107.
18. Edeas M.A., Lindenbaum A. Protective effects in various flavonoid compounds on HIV infections // Bulletin O.I.V. 2000. № 73. P. 810–818.
19. Eun Mi Choi, Gun-Hee Kim, Yong Soo Lee. Carthamus tinctorius flower extract prevents H₂O₂-induced dysfunction and oxidative damage in osteoblastic MC3T3-E1 cells // Phytother. Res. 2010. Jul. V. 24, № 7. P. 1037–1041.
20. Fan L., Zhao H.Y., Xu M. et al. Qualitative evaluation and quantitative determination of 10 major active components in *Carthamus tinctorius* L. by high-performance liquid chromatography coupled with diode array detector // Chromatogr. A. 2009. Mar. 13. V. 1216, № 11. P. 2063–2070.
21. Fukai T., Sakagami H., Toguchi M. et al. Cytotoxic activity of low molecular weight polyphenols against human oral tumor cell lines // Anticancer Res. 2000. Jul.–Aug. V. 20, № 4. P. 2525–2536.
22. Hudson J.B. Applications of the Phytomedicine *Echinacea purpurea* (Purple Coneflower) in Infectious Diseases // Journal of Biomedicine and Biotechnology. 2012. V. 2012. Article ID 769896. 16 P. doi:10.1155/2012/769896.
23. Johnson J.J., Bailey H.H., Mukhtar H. Green tea polyphenols for prostate cancer chemoprevention: a translational perspective // Phytomedicine. 2010. Jan. V. 17, № 1. P. 3–13.
24. Kondrashov A., Vranková S., Dovinová I. et al. The effects of new Alibernet red wine extract on nitric oxide and reactive oxygen species production in spontaneously hypertensive rats // Oxidative Medicine and Cellular Longevity Volume. 2012. Article ID 806285. 8 P. doi:10.1155/2012/806285.
25. Neukirch H., D'Ambrosio M., Dalla Via J., Guerriero A. Simultaneous quantitative determination of eight triterpenoid monoesters from flowers of 10 varieties of *Calendula officinalis* L. and characterisation of a new triterpenoid monoester // Phytochem. Anal. 2004. Jan. – Feb. 15 (1). P. 30–35.
26. Park B.H., Fikrig S.M., Smithwich E.M. Infection and nitrobluetetrazolium reduction by neutrophils; a diagnostic aid // Lancet. 1968. V. 11 (2). P. 532–534.
27. Portugal M., Barak V., Ginsburg, I., Kohen R. Interplay among oxidants, antioxidants, and cytokines in skin disorders: present status and future considerations // Biomed. Pharmacother. 2007. Aug. 61 (7). P. 412–422.
28. Raza H., John A. In vitro effects of tea polyphenols on redox metabolism, oxidative stress, and apoptosis in PC12 cells // Ann. N. Y. Acad. Sci. 2008. Sep. 1138. P. 358–365.
29. Shah A.S., Juvekar A.R. *In vitro* and *in vivo* immunostimulatory activity of Woodfordia fruticosa flowers on non-specific immunity // Pharm. Biol. 2010. Sep. 48 (9). P. 1066–1072.
30. Yang C.S., Lambert J.D., Sang S. Antioxidative and anticarcinogenic activities of tea polyphenols // Arch. Toxicol. 2009. Jan. 83 (1). P. 11–21.
31. Yoon J.H., Baek S.J. Molecular Targets of Dietary Polyphenols with Anti-inflammatory Properties // Yonsei Med. J. 2005. 46 (5). P. 585–596.

Поступила в редакцию 20.11.2012 г.

Утверждена к печати 10.04.2013 г.

Масная Наталья Владимировна (✉) – д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник лаборатории иммунофармакологии НИИ фармакологии СО РАМН (г. Томск).

Исайкина Надежда Валентиновна – канд. фарм. наук, ст. преподаватель кафедры фармакогнозии с курсами ботаники и экологии СибГМУ (г. Томск).

Шерстобоев Евгений Юрьевич – д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией иммунофармакологии НИИ фармакологии СО РАМН (г. Томск).

Калинкина Галина Ильинична – д-р фарм. наук, профессор, зав. кафедрой фармакогнозии с курсами ботаники и экологии СибГМУ (г. Томск).

✉ Масная Наталья Владимировна, тел. 8 (3822) 41-83-77; e-mail: nvm13@rambler.ru

EFFECT OF POLYPHENOLIC COMPOUNDS ISOLATED FROM *CARTHAMUS TINCTORIUS* AND *CALENDULA OFFICINALIS* L., ON FUNCTIONAL ACTIVITY OF IMMUNE CELLS UNDER CONDITIONS OF CYTOSTATIC IMMUNOSUPPRESSION

Masnaya N.V.¹, Isaikina N.V.², Sherstoboev Ye.Yu.¹, Kalinkina G.I.²

¹ Institute of Pharmacology SB RAMS, Tomsk, Russian Federation

² Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

ABSTRACT

The purpose of the study – to study the effect of polyphenolic compounds extracted from the flowers of safflower oil and calendula, the functional activity of immune cells in cytotoxic immune suppression. Conventional methods determined the total number of splenocytes, relative (%) and absolute ($\cdot 10^6$), the number of antibody-forming cells (AFC) in the spleen of mice by local hemolysis by Cunningham. Evaluated the effect of compounds of natural origin on the cellular immune response in the delayed-type hypersensitivity (DTH). Phagocytic activity of peritoneal macrophages was determined by the method based on the intensity of their capture ink particles. We studied the functional activity of peritoneal macrophages by NBT test (spontaneous and stimulated). Studies were conducted on male mice Category 1 (conventional linear mouse) line CBA/CaLac aged 2–2.5 months, weighing 20–22 g.

After the introduction mice line CBA/CaLac of polyphenolic compounds derived from flowers of *Carthamus tinctorius* and flowers of *Calendula officinalis* L. during the 5-day course in dose 50 mg/kg was observed stimulation of the humoral immune response (total number of splenocytes, the number of antibodies in the spleen cells) and the functional activity of macrophages and Immunomodulating effect on the humoral immunity and the functional activity of macrophages after a single injection of cyclophosphamide in dose 250 mg/kg. Immunotropic activity of polyphenolic compounds is higher than that those of the reference product of tincture of Echinacea purpurea.

KEY WORDS: immune cells, polyphenolic compounds from plants, immunotropic effect, mice CBA/CaLac.

Bulletin of Siberian Medicine, 2013, vol. 12, no. 3, pp. 41–51

References

1. Belenky M.L. *Elements of quantitative evaluation of pharmacological effects*. Leningrad, Medgiz Publ., 1963. 152 p. (in Russian).
2. Borovykov V.P., Borovykov I.P. *Statistica – Statistical analysis and data processing for Windows*. Moscow, Filin Publ., 1997. 608 p. (in Russian).
3. Goldberg E.D., Dygai A.M., Shahov V.P. *Methods of tissue culture-hematological energy*. Tomsk State University Publ., 1992. 272 p. (in Russian).
4. Dygai A.M., Zhdanov V.V. *The theory of the regulation of hematopoiesis*. Moscow, Russian Academy of Medical Sciences Publishing House, 2012. 140 p. (in Russian).
5. Zaitsev V.G. *Models of lipid peroxidation and their use for the evaluation of the antioxidant effect of drugs*. Author. diss. Ph.D. Volgograd, 2001. 23 p. (in Russian).
6. Yevstropov A.N., Burova L.G., Greck O.R., Zakharova L.N., Volkhonskaya T.A. *Bulletin of Siberian Medicine*, 2002, vol. 1, no. 4, pp. 115–116 (in Russian).
7. Yevstropov A.N., Burova L.G., Orlovskaya I.A., Grek O.R., Zakharova L.N., Volkhonskaya T.A. *Problems of Virology*, 2004, vol. 49, no. 6, pp. 30–33 (in Russian).
8. Yershov D.S., Zyryanova I.M., Paston S.V., Kasyanenko N.A. *Bulletin. St. Petersburg. University. Ser. 4: Physics, Chemistry*. 2007. MY. 2. P. 3–9 (in Russian).
9. Kostyuk V.A., Potapovich A.I. *Bioradicals and Bioantioxidant*. Minsk, BGU, 2004. 179 p. (in Russian).
10. Mikulyak N.I., Mikulyak A.I., Goldhaur S.A. *Bulletin of the Russian University of People's Friendship. Series: Medicine*, 2009, no. 4, pp. 87–89 (in Russian).
11. *Guidelines for experimental (preclinical) studies of new pharmacological agents*. Ed. R.U. Habriev. 2nd ed., Rev. and add. Moscow, Medicine Publ., 2005. 832 p. (in Russian).
12. Khaitov R.V., Guscin I.S., Pinegin B.V., Zebrev A.I. *Bulletin of Pharmacological Committee*, 1999, no. 1, p. 34 (in Russian).
13. Tsydendambaev P.B., Khyshiktuev B.S., Nikolaev S.M. *Bull. Centre of Medical Ecology*, 2006, no. 6 (52), pp. 229–233 (in Russian).
14. Asiri Y.A. Probuocol Attenuates Cyclophosphamide-induced Oxidative Apoptosis, p53 and Bax Signal Expression in Rat Cardiac Tissues. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2010, Sep.–Oct. vol. 3, no. 5, pp. 308–316.
15. Bharat B. Aggarwal, Shishir Shishodia. Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochemical Pharmacology*, 2006, 71, pp. 1397–1421.
16. Chen J.R., Yang Z.Q., Wang L., Wang M. Immunomodulatory activity *in vitro* and *in vivo* of polysac-

- charide from
Potentilla anserina. *Fitoterapia*, 2010, Dec., vol. 81, no. 8, pp. 1117–1124.
17. Cunningham A.J. A method of increased sensitivity for detecting single antibodyforming cells. *Nature*, 1965, vol. 207, no. 5001, pp. 1106–1107.
 18. Edeas M.A., Lindenbaum A. Protective effects in various flavonoid compounds on HIV infections. *Bulletin O.I.V.*, 2000, no. 73, pp. 810–818.
 19. Eun Mi Choi, Gun-Hee Kim, Yong Soo Lee. Carthamus tinctorius flower extract prevents H₂O₂-induced dysfunction and oxidative damage in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Phytother. Res.*, 2010, Jul., vol. 24, no. 7, pp. 1037–1041.
 20. Fan L., Zhao H.Y., Xu M. et al. Qualitative evaluation and quantitative determination of 10 major active components in *Carthamus tinctorius* L. by high-performance liquid chromatography coupled with diode array detector. *Chromatogr. A*. 2009, Mar. 13, vol. 1216, no. 11, pp. 2063–2070.
 21. Fukai T., Sakagami H., Toguchi M. et al. Cytotoxic activity of low molecular weight polyphenols against human oral tumor cell lines. *Anticancer Res.*, 2000, Jul.–Aug., vol. 20, no. 4, pp. 2525–2536.
 22. James B. Hudson. Applications of the Phytomedicine *Echinacea purpurea* (Purple Coneflower) in Infectious Diseases. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012, vol. 2012. Article ID 769896. 16 P. doi:10.1155/2012/769896.
 23. Johnson J.J., Bailey H.H., Mukhtar H. Green tea polyphenols for prostate cancer chemoprevention: a translational perspective. *Phytomedicine*, 2010, Jan., vol. 17, no. 1, pp. 3–13.
 24. Kondrashov A., Vranková S., Dovinová I. et al. The effects of new Alibernet red wine extract on nitric oxide and reactive oxygen species production in spontaneously hypertensive rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity Volume*, 2012. Article ID 806285. 8 P. doi:10.1155/2012/806285.
 25. Neukirch H., D'Ambrosio M., Dalla Via J., Guerriero A. Simultaneous quantitative determination of eight triterpenoid monoesters from flowers of 10 varieties of *Calendula officinalis* L. and characterisation of a new triterpenoid monoester. *Phytochem. Anal.* 2004. Jan.–Feb. 15 (1). P. 30–35.
 26. Park B.H., Fikrig S.M., Smithwich E.M. Infection and nitrobluetetrazolium reduction by neutrophils; a diagnostic aid. *Lancet*. 1968. V. 11 (2). P. 532–534.
 27. Portugal M., Barak V., Ginsburg, I., Kohen R. Interplay among oxidants, antioxidants, and cytokines in skin disorders: present status and future considerations. *Biomed. Pharmacother.*, 2007, Aug., 61 (7), pp. 412–422.
 28. Raza H., John A. In vitro effects of tea polyphenols on redox metabolism, oxidative stress, and apoptosis in PC12 cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2008, Sep. 1138, pp. 358–365.
 29. Shah A.S., Juvekar A.R. *In vitro* and *in vivo* immunostimulatory activity of *Woodfordia fruticosa* flowers on non-specific immunity. *Pharm. Biol.*, 2010, Sep. 48 (9), pp. 1066–1072.
 30. Yang C.S., Lambert J.D., Sang S. Antioxidative and anticarcinogenic activities of tea polyphenols. *Arch. Toxicol.*, 2009, Jan., 83 (1), pp. 11–21.
 31. Yoon J.H., Baek S.J. Molecular Targets of Dietary Polyphenols with Anti-inflammatory Properties. *Yonsei Med. J.*, 2005, 46 (5), pp. 585–596.

Masnaya Natalya V. (✉), Institute of Pharmacology SB RAMS, Tomsk, Russian Federation.

Isaikina Nadezhda V., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Sherstoboev Yevgeny Yu., Institute of Pharmacology SB RAMS, Tomsk, Russian Federation.

Kalinkina Galina I., Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

✉ **Masnaya Natalya V.**, Ph. +7 (3822) 41-83-77, nvm13@rambler.ru