

УДК 615.322/616-006

©Коллектив авторов

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ПЕПТИДНОГО ЭКСТРАКТА ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ РЕ-РМ НА НОВОЙ МЫШИНОЙ МОДЕЛИ Т-ЛИМФОЛЕЙКОЗА

А.В. Чаадаева, И.И. Тепкеева*, Е.В. Мусеева, Е.В. Свищевская, В.П. Демушкин

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и
Ю.А. Овчинникова РАН, ул. Миклухо-Маклая 16/10, 117871, Москва V437,
тел.: (495) 330-64-38, 330-74-92; факс: (495)330-64-38;
эл. почта: tepkeeva-inna@yandex.ru

По морфологическим, патологическим и клиническим признакам выявили черты сходства новой мышинной модели ASF-LL с Т-лимфолейкозом человека ретровирусной природы. К ним относятся характерные по форме лейкемические клетки в виде цветов, увеличение лимфатических узлов и гепатоспленомегалия, множественный рост в коже, органах мочеполовой системы, лёгких и гипофизе. Клетки опухоли по фенотипу напоминали Т-регуляторы (CD4/CD25) и были L-селектин-положительны. Заболевания у человека и мыши характеризуются быстрым агрессивным течением и слабым ответом на стандартную химиотерапию. Пептиды, полученные из лекарственных растений, все более привлекают внимание как новый источник противоопухолевых средств. Протестировали противоопухолевое действие пептидного экстракта РЕ-РМ из смеси чистотела большого (*Chelidonium majus* L.), девясила высокого (*Inula helenium* L.), хвоща полевого (*Equisetum arvense* L.) и гриба чаги (*Inonotus obliquus*) в новой мышинной интраперитонеальной модели Т-лимфолейкоза ASF-LL. Обнаружили определенную противоопухолевую активность двух локальных инъекций РЕ-РМ (увеличение выживания 33% леченых животных).

Ключевые слова: лейкемия, лимфома, Т-лимфолейкоз взрослых, пептиды растений, противоопухолевая активность.

ВВЕДЕНИЕ. Т-лимфолейкозы (Т-ЛЛ) человека, особенно ретровирусной природы, характеризуются быстрым агрессивным течением и плохо поддаются лечению традиционными химиотерапевтическими методами [1, 2], что заставляет искать новые подходы, включая нетрадиционную медицину и траволечение. Растительные пептиды из лекарственных растений привлекают все больше внимания как источники новых противоопухолевых препаратов. Например, ранее было показано, что пептидный экстракт РЕ-РМ, полученный из смеси растений: чистотела большого (*Chelidonium majus* L.), девясила высокого (*Inula helenium* L.), хвоща полевого (*Equisetum arvense* L.) и гриба чаги (*Inonotus obliquus*), обладает выраженной противоопухолевой активностью на медленно растущей мышинной модели рака молочной железы (РМЖ) человека [3-5].

* - адресат для переписки

Поэтому было решено проверить действие данного экстракта на новой мышинной модели Т-ЛЛ, поскольку такие модели ЛЛ традиционно считаются адекватными соответствующему заболеванию человека [6, 7]. Инбредная линия мышей A/WySnJCitMoise (A/Sn), поддерживаемая в отделении биомodelей лаборатории биотехнологии Института биоорганической химии РАН, (Москва), характеризуется невысокой частотой спонтанного рака молочных желез (менее 5%) и спонтанного (естественно развивающегося) ЛЛ. Спонтанный ЛЛ был обнаружен и диагностирован цитологически у самки линии A/Sn.

Целью настоящей работы было охарактеризовать новую мышиную модель лимфолейкоза, названную ASF-LL, гистологически и фенотипически. Установить перевиваемую модель и изучить противоопухолевую активность пептидного экстракта PE-PM на данной модели.

МЕТОДИКА. Для установления подкожной перевиваемой модели ASF-LL 1×10^6 спленоцитов из спонтанной лимфоидной опухоли в селезенке перевили подкожно под правую переднюю лапу сингенным реципиентам. В дальнейшем ASF-LL поддерживали путем сингенных трансплантаций *in vivo* и пассажей *in vitro*. Кроме того, образцы лимфолейкоза хранили в глубокой заморозке. Новую перевиваемую модель охарактеризовали гистологически и методом проточной цитофлуориметрии.

Гистологическое исследование проводили по стандартной методике [8]. Внутренние органы опухоленосителя (подкожная опухоль, висцеральные лимфоузлы, тимус, легкие, печень, почки, селезенка, головной мозг) извлекали с прилегающими тканями и фиксировали в 4% растворе формалина на фосфатном буфере (рН 7,2). Парафиновые срезы (толщиной 5 мкм) изготавливали по стандартной методике и окрашивали гематоксилин-эозином [9]. ШИК реакцию применяли для визуализации макрофагов [10]. Для выявления лейкемических проявлений из крови и перитонеальной жидкости животных изготавливали мазки, которые окрашивали по методу Гимза-Романовского [11].

Для исследования опухолевой ткани методом проточной цитофлуориметрии опухоль измельчали на льду в однократном растворе фосфатного буфера (ФБ) и протирали через металлическое сито. Полученную таким образом суспензию отстаивали в течение 30 минут с целью осаждения конгломератов клеток. Полученные клетки дважды промывали в ФБ с последующим центрифугированием в течении 7 минут (1100 об/мин, центрифуга Biosan LMC-3000). Полученную суспензию клеток инкубировали с мечеными антителами в растворе ФБ с 1% (масса/объем) бычьим сывороточным альбумином ("Sigma", США) и 0,05% (масса/объем) азидом натрия (ФБА) ("Sigma") в течение 1 часа. Далее клетки промывали в растворе ФБА и фиксировали в 1% (масса/объем) растворе параформальдегида ("Sigma") в ФБА при комнатной температуре в течение 1 часа. После заключительной промывки в ФБА клетки переносили в раствор ФБ с 1 мМ ЭДТА. Для идентификации различных клеточных популяций опухоли использовали проточный цитофлуориметр FACScan ("Becton Dickinson", США) и программное обеспечение CELLQuest. Жизнеспособные клетки идентифицировали по прямому и боковому светорассеиванию с исключением мертвых с помощью пропидия йодида ("Sigma"). Пропидий йодид (50 мкл на пробу) добавляли непосредственно перед тестированием. Для проточной цитофлуориметрии были использованы следующие антитела: анти-CD-45.2-FITC для выявления лейкоцитарной фракции в образце, анти-Thy1-FITC для выявления Т-лимфоцитов, анти-CD4-FITC для выявления Т-хелперов, анти-CD8-PE для выявления Т-эффекторной субпопуляции Т-лимфоцитов, анти-CD-19-PE для выявления В-лимфоцитов, анти-CD25-PE для выявления активированных клеток, анти-CD62L-FITC для выявления селектинов на поверхности клеток, анти-CD11b-FITC для выявления макрофагов ("Caltag", США). Для выявления CD4+CD8+ и CD4+CD25+ популяций использовали двойное окрашивание.

Для получения пептидного экстракта использовали методику экстракции пептидного материала, свободного от аминокислот, белков и высокомолекулярных пептидов [12]. Для экстракции пептидов использовали препараты растений, разрешенные фармакопеей РФ. Пептидный экстракт из смеси растений чистотела большого (*Chelidonium majus* L.), девясила высокого (*Inula helenium* L.), хвоща полевого (*Equisetum arvense* L.) и гриба чаги (*Inonotus obliquus*) (далее РЕ-РМ) получили по разработанной нами методике [3, 12]. Сухое растительное сырье (10 г) измельчали в ножевом гомогенизаторе MPW-324 (Польша), замачивали в 500-600 мл 1 М уксусной кислоты (“ХимМед”, “хч”), выдерживали 1 час при комнатной температуре. Суспензию трижды с интервалом 10 мин подвергали ультразвуковому воздействию (ультразвуковая баня фирмы “Elma”, серия LC T 890/H). Суспензию нагревали в колбонагревателе LTHS (Польша) при 100°C в течение 30 мин. Смесь охлаждали и центрифугировали в стаканах емкостью 250 мл на центрифуге Beckman Model J 2-21 (ротор 14000 RPM, ser E3628) 40 мин при 75000 g. К супернатанту добавляли ацетон (“ХимМед”, “осч 9-5”) в объемном соотношении 2 : 5 и оставляли на ночь в холодильнике при 4°C. Выпавший осадок отделяли центрифугированием в стаканах емкостью 50 мл на центрифуге Beckman Model J 2-21 (ротор 17000 RPM, ser E21759) в течение 40 мин при 40000 g, растворяли в 0,1 М уксусной кислоте и центрифугировали 20 мин при 40000 g. Полученный супернатант лиофилизировали дважды, растворяя сухой остаток в 20-50 мл воды. Выход пептидного материала составил 50–100 мг. Пептидный экстракт охарактеризовали методами ионообменной хроматографии и масс-спектро스코пии (готовится к публикации).

Испытание противоопухолевой активности пептидного экстракта РЕ-РМ проводили на интраперитонеальной (и.п.) летальной модели ЛЛ. На день “0” сингенным самкам A/Sn в возрасте 6 месяцев (в каждой группе по 7-9 животных) провели и.п. перевивку опухолевых клеток (ОК) из подкожной опухоли ASF-LL в дозе 10^6 жизнеспособных ОК на мышь. Пептидный экстракт растворяли в физиологическом растворе хлорида натрия (концентрация пептидов 10 мг/мл) и вводили и.п. дважды, на 11-ый и 20-ый день после перевивки ОК в дозе 0,1 мл на мышь. Контрольные животные получали физиологический раствор в тех же объемах и в те же сроки. Каждая мышь имела индивидуальную метку, что позволило оценивать кинетику роста опухоли индивидуально. Противораковый эффект оценивали по улучшению выживания и замедлению опухолевого роста у мышей, обработанных пептидным экстрактом. В и.п. модели на начальном этапе о росте опухоли можно судить по приросту веса самок. Далее по мере прогрессии ЛЛ прирост веса опухоли происходит в основном за счет уменьшения веса реципиента, предшествующего гибели животного. Таким образом, скорость роста опухоли оценивали по изменению веса животных (привесам) относительно веса на день “0” (далее ОВ). Привесы, в данном случае на 20-й день вычисляли по формуле: $ОВ = (B_{20} - B_0) / B_0 \cdot 100\%$, где B_{20} – вес на 20-й день, B_0 – вес на “0” день эксперимента. Мышей осматривали ежедневно для оценки состояния здоровья и выживания [13-15]. Выживание рассматривали как динамику и вычисляли среднюю продолжительность жизни (СПЖ) реципиентов в опыте и контроле. По методике “точечных” экспериментов опыт повторяли дважды [5, 16]. Для обработки и оценки достоверности результатов использовали t-критерий Стьюдента и U-критерий Вилкоксона [17].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. В ходе цитологического исследования первых пассажей *in vivo* и спонтанной опухоли самки A/Sn был обнаружен рост лимфомы. Бластные лимфоидные клетки превалировали в крови и и.п. жидкости (рис. 1 А и Б, соответственно). Такие признаки как прорастание перевиваемой опухоли в кожу, гипертрофированный тимус и увеличенные висцеральные лимфатические узлы позволили предположить Т-лимфолейкоз. Гистопатологическое исследование и фенотипирование подтвердили это предположение и выявили наличие множественной Т-лимфомы с лейкомическими

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ПЕПТИДНОГО ЭКСТРАКТА ИЗ РАСТЕНИЙ

проявлениями. В ходе гистопатологического исследования перевиваемой подкожной модели ASF-LL было установлено наличие инфильтрации опухоли макрофагами и плазматическими клетками. Был выявлен множественный рост опухоли во всех органах лимфатической системы, а также метастазы опухоли в печень (рис. 1 В), легкие, поджелудочную железу, головной мозг (рис. 1 Г) и органы мочеполовой системы.

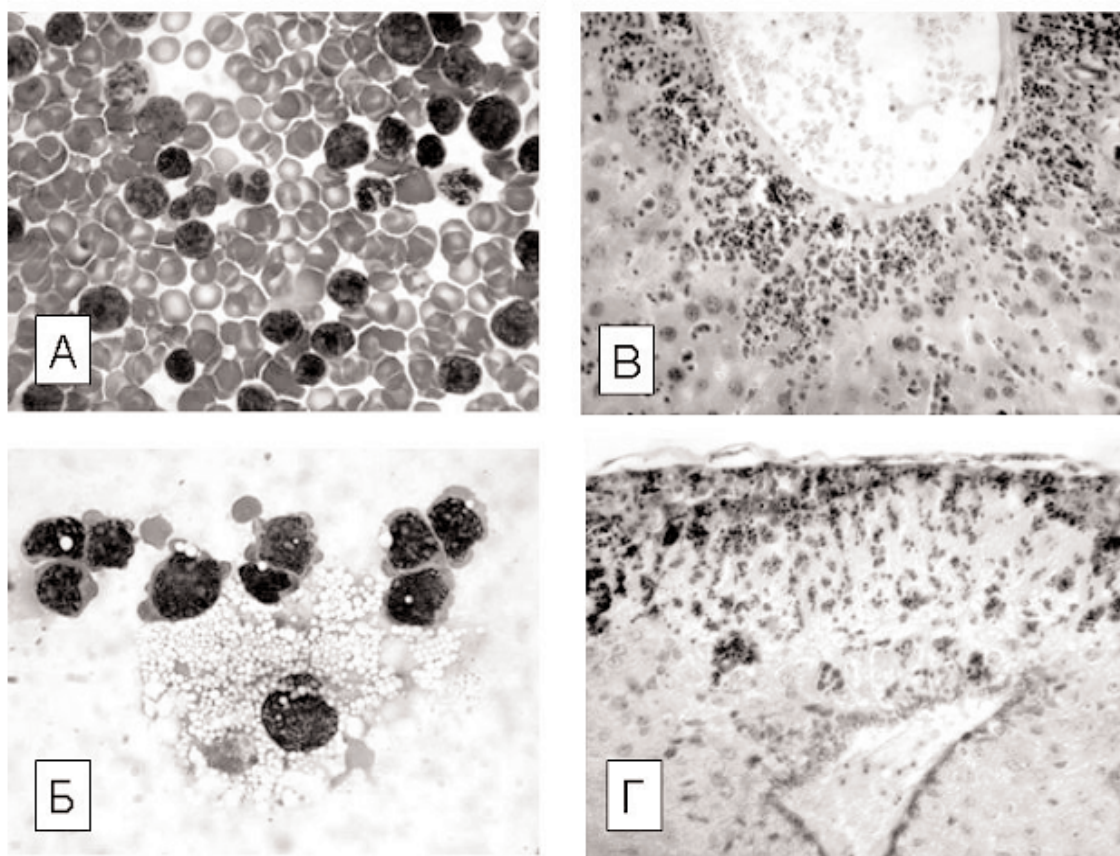


Рисунок 1.

Морфология лимфолейкоза ASF-LL.

- А – Периваскулярные метастазы в печени, гистологический срез, окраска гематоксилин-эозином, малое увеличение;
Б - Метастазы лейкоза ASF-LL в гипофизе, PAS-окрашивание, малое увеличение;
В – Картина бластного лимфолейкоза, мазок периферической крови, окраска Гимза по Романовскому, масляная иммерсия;
Г – Лейкемические клетки и активированный макрофаг, мазок интраперитонеальной жидкости, окраска Гимза по Романовскому, масляная иммерсия.

Для фенотипирования новой модели лимфолейкоза методом проточной цитофлуориметрии в серии экспериментов нами была подобрана панель моноклональных антител к следующим клеточным рецепторам (рис. 2): CD45.2 (общий лейкоцитарный антиген), CD62L (L-селектины, используются для направленной терапии LL), Thy1 (экспрессируется Т-клетками), CD4 (рецептор для молекул главного комплекса гистосовместимости (ГКГ) класса II, экспрессируется Т-хелперами), CD8 (рецептор для молекул ГКГ класса I, экспрессируется Т-супрессорами), CD4/CD25 (рецептор для α -цепи интерлейкина-2 (IL-2)), CD19 (субъединица В-клеточного корцептора), CD11b (интегрин CR3 экспрессируется моноцитами, макрофагами, NK-клетками, гранулоцитами).

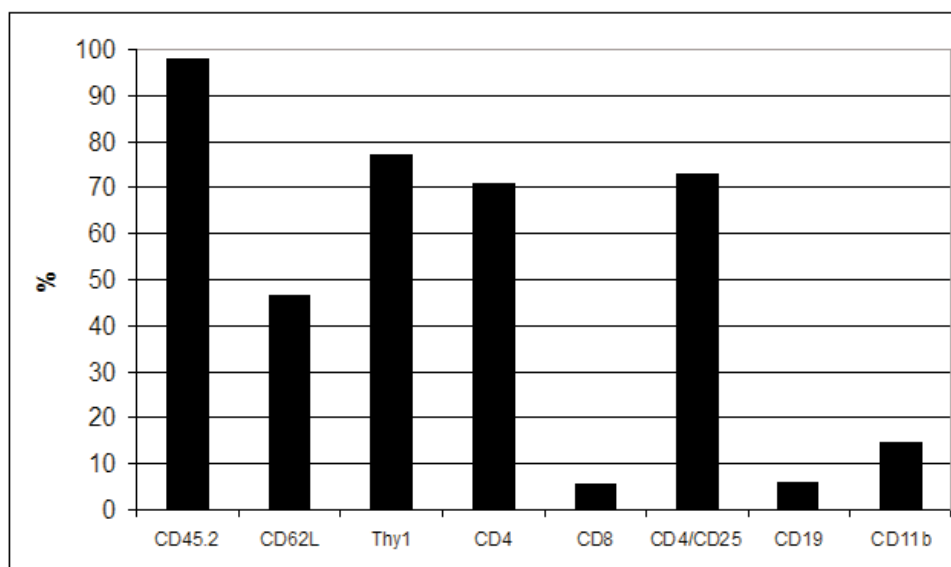


Рисунок 2.
Основные субпопуляции клеток опухоли ASF-LL.

Таким образом, было установлено, что опухолевые клетки ASF-LL были представлены преимущественно активированными субпопуляциями CD4⁺/CD25⁺ Т-клеток, напоминая по фенотипу Т-регуляторы, подобно тому, как это бывает при Т-ЛЛ человека [1] и приматов [18]. Инфильтрирующие опухоль клетки (в том числе, В-клетки и макрофаги) составляли около 20 %.

Показано, что около половины клеток опухоли ASF-LL экспрессирует L-селектины, что предполагает возможность нацеленной терапии, подобно методике, разработанной на мышинной модели РМЖ [19]. На клеточной линии лимфомы человека было продемонстрировано противоопухолевое действие пептидов растительного происхождения [20].

Поэтому охарактеризованная нами модель Т-ЛЛ человека была использована для тестирования противоопухолевого действия пептидного экстракта РЕ-РМ. Данные двух экспериментов (осень и весна) по привесам на 20-й день после перевивки ОК на перевиваемой ип модели демонстрируют воспроизводимость результатов вне зависимости от времени года (рис. 3 А). Наблюдали сходные тенденции действия пептидного экстракта в этих опытах. Далее представлены результаты одного из двух экспериментов.

Животные из контрольной группы погибли практически одновременно на 27-28 день эксперимента (СПЖ $27,5 \pm 0,5$ дней) при тенденции к увеличению СПЖ самок из опытной группы ($29,5 \pm 7,5$ дней). Таким образом, в леченной группе 50% животных были живы на время гибели реципиентов в контроле (рис. 3 Б).

Анализ динамики выживания мышей из опытной группы по сравнению с СПЖ мышей в контроле (рис. 3 Б) выявил разнонаправленное распределение индивидуальных параметров выживания леченных животных, а именно: часть леченой группы мышей погибла раньше контроля, демонстрируя ухудшение выживания (рис. 3 Б, В, подгруппа 1); некоторые погибли в сходные с контролем сроки (рис. 3 Б, В, подгруппа 2); а оставшиеся животные выжили лучше контроля (33%, рис. 3 Б, В, подгруппа 3). При разнонаправленном эффекте (стимуляция роста опухоли у одних реципиентов и ингибирование у других) исследуемых препаратов на выживание мышей, естественно, различия по средней продолжительности жизни будут не достоверными (независимо от количества мышей в группе) [12]. В случае с РЕ-РМ косвенные доказательства стимуляции роста опухоли в подгруппе 1 (ухудшение выживания) и угнетении роста в

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ПЕПТИДНОГО ЭКСТРАКТА ИЗ РАСТЕНИЙ

подгруппе 3 (улучшение выживания) были получены путем анализа данных по средним привесам леченых самок на 20-й день после перевивки ОК (рис. 3 Г). Леченые самки, погибшие в те же сроки, что и контрольные (подгруппа 2), демонстрировали привесы (8,3%), сходные с показателем в контроле (9,9%). Вес как коротко (подгруппа 1), так и долго выживших леченых самок (подгруппа 2) уменьшился в сравнении с контрольным показателем. Исходя из особенностей и.п. модели Т-ЛЛ, уменьшение веса реципиента в ходе прогрессии опухолевого роста могло свидетельствовать об истощении организма самки-реципиента (подгруппа 1, в пользу этого предположения свидетельствует ухудшение выживания), или замедлении скорости роста опухоли (подгруппа 3, в пользу этого предположения свидетельствует улучшение выживания).

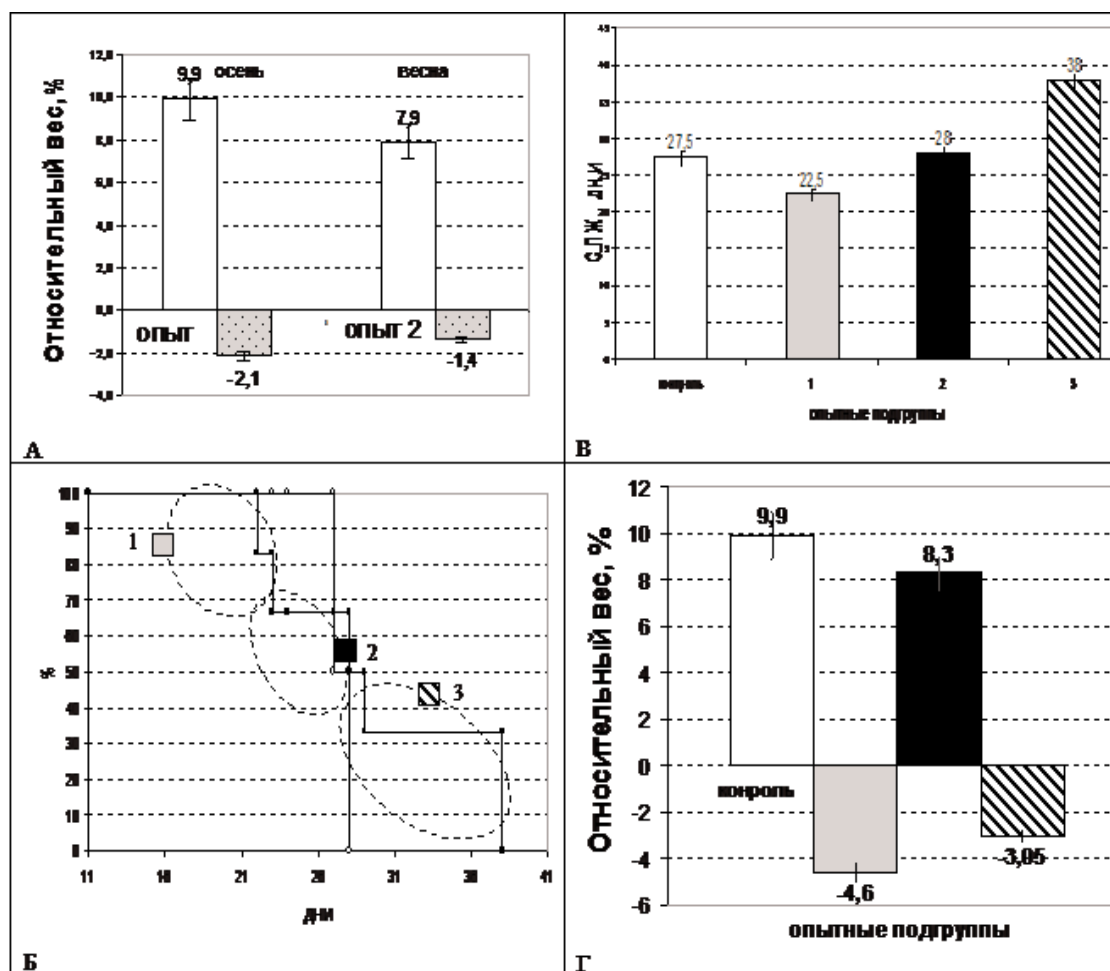


Рисунок 3.

Действие PE-PM на рост опухоли и выживание.

- А - Сравнение привесов в опыте (серые с точками столбики) и контроле (белые столбики), как показатель роста опухоли у леченых животных по сравнению с контрольными. Сходные значения параметров в двух экспериментах свидетельствуют о воспроизводимости результатов;
- Б – Действие PE-PM на динамику выживания контрольной группы (пунктирная линия) и леченой группы (сплошная линия). В опытной группе выделены подгруппы с выживанием хуже контроля (1, серый столбик), с выживанием, сходным с выживанием контрольных животных (2, черный столбик), с выживанием лучше контроля (3, полосатый столбик);
- В – Средняя продолжительность жизни (СПЖ), СПЖ контрольной группы животных (белый столбик), СПЖ леченых животных подгрупп: 1 - серый столбик, 2 - черный столбик, 3 -полосатый столбик;
- Г – Средние привесы леченых животных по подгруппам: 1 - серый столбик, 2 - черный столбик, 3 - полосатый столбик, по сравнению с контролем (белый столбик).

Разнонаправленное действие пептидного экстракта РЕ-РМ в одной и той же дозировке как на индивидуальный рост опухоли, так и на продолжительность жизни леченых мышей напоминает ситуацию с иммунотерапевтическими подходами к лечению раковых больных. Такое сравнение возможно, так как многие характеристики, в том числе и влияющие на приживание и скорость роста перевиваемой опухоли характеризуются значительным индивидуальным разбросом у животных внутри одной инбредной линии. Известно, например, что иммунотерапия интерлейкином-2 приводит к улучшению выживания только ограниченного количества реципиентов (пациентов). Это было показано как в мышинной модели РМЖ [21], так и при лечении пациентов с меланомой [22] и раком почки [23]. Сходная динамика выживания в случае лечения исследуемым пептидным экстрактом РЕ-РМ свидетельствует о его непрямом действии на опухоль и позволяет предполагать его опосредованное действие через иммунную систему реципиента. Дальнейшие исследования должны подтвердить или опровергнуть правильность этого предположения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ. Получена новая мышинная модель, адекватная острому Т-клеточному лимфолейкозу человека, которая характеризуется резистентностью к традиционным методам терапии. Результаты испытания пептидного экстракта РЕ-РМ на этой модели свидетельствуют об улучшении выживания трети леченых животных, что позволяет надеяться на возможность продления жизни пациентов с Т-ЛЛ, используя нетрадиционные методы лечения, в том числе с помощью пептидов растительного происхождения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Callens C., Moura I.C., Lepelletier Y., Coulon S., Renand A., Dussiot M., Ghez D., Benhamou M., Monteiro R.C., Bazarbachi A., Hermine O. (2008) *Leukemia*, **22**(1), 42-48.
2. Ohshima K. (2007) *Cancer Sci.*, **98**, 772-778.
3. Тепкеева И.И., Моисеева Е.В., Чаадаева А.В., Жаворонкова Е.В., Кесслер Ю.В., Семушина С.Г., Демушкин В.П. (2008) Бюлл. экспер. биол. мед., **145**, 446-448.
4. Тепкеева И.И., Моисеева Е.В., Чаадаева А.В., Жаворонкова Е.В., Кесслер Ю.В., Семушина С.Г., Демушкин В.П. (2008) Биология: Теория, практика, эксперимент. том 2, Саранск, с. 211-214.
5. Tepkeeva I.I., Moiseeva E.V., Chaadaeva A.V., Kessler Yu.V., Semushina S.G., Telegin L.Yu., Demushkin V.P. (2008) *Eur. J. Nat. Hist.*, **2**, 73-75.
6. Pattengale P.K. (1994) *Pathology of Tumours in Laboratory Animals*, **2**, 651-670.
7. Krasilshchikova M.S., Rapoport E.M., Ovchinnikova T.V., Pazynina G.V., Bovin N.V., Moiseeva E.V. (2002) *Baltic J. Lab. Anim. Sci.*, **1**, 68-73.
8. Moiseeva E.V., Rapoport E.M., Bovin N.V., Miroshnikov A.I., Chaadaeva A.V., Krasilshchikova M.S., Bojenko V.K., Bijleveld C., van Dijk J.E., Den Otter W. (2005) *Breast Cancer Res. Treat.*, **91**, 227-241.
9. Сапожников А.Г., Дорогевич А.Е. (2000) Гистологическая и микроскопическая техника: Руководство. Смоленск: САУ.
10. Leroy J.L., Saint-Pol P., Hermand E. (1987) *Contrib. Gynecol. Obstet.*, **16**, 164-169.
11. Почтарь М.Е., Луговская С.А., Морозова В.Т. (2003) Цитохимическая диагностика в лабораторной гематологии: Метод. Руководство: Атлас, Рос. мед. акад. последиипломного образования, СПб.
12. Шваб О.В., Тришкин С.В., Шепель Е.Н., Васьковский Б.В., Сухих Г.Т., Демушкин В.П. (1999) *Биоорган. Хим.*, **25**, 20-24.
13. Den Otter W., Steerenberg P.A., Van der Laan J.W. (2002) *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **35**(2 Pt 1), 266-272.
14. Moiseeva E.V., Merkulova I.B., Bijleveld C., Koten J-W., Miroshnikov A.I., Den Otter W. (2003) *Cancer Immunol. Immunother.*, **52**, 487-496.

15. *Moiseeva E.* (2005) Original approaches to test anti-breast cancer drugs in a novel set of mouse models. Pathobiology, Utrecht University, 191 p.p., <http://igitur-archive.library.uu.nl/dissertations/2005-1130-200033/index.htm>
16. *Тепкеева И.И., Чаадаева А.В., Кесслер Ю.В., Моисеева Е.В., Демушкин В.П.* (2008) Российский иммунологический журнал, **2**(11), 73-75.
17. *Гублер Е.В., Генкин А.А.* (1973) Критерий U Вилкоксона-Манна-Уитни. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях, М., Наука, 72-75.
18. *Инджия Л.В., Яковлева Л.А., Чикобава М.Г., Валентян М., Лапин Б.А., Кларк Е.* (1990) Вестник Академии Медицинских Наук СССР, **9**, 21-27.
19. *Vodovozova E.L., Moiseeva E.V., Grechko G.K., Gayenko G.P., Nifant'ev N.E., Bovin N.V., Molotkovsky J.G.* (2000) Eur. J. Cancer, **36**, 942-949.
20. *Svangard E., Burman R., Gunasekera S., Lovborg H., Gullbo J., Goransson U.* (2007) J. Nat. Prod., **70**, 643-647.
21. *Den Otter W., Jacobs J.J., Battermann J.J., Hordijk G.J., Krastev Z., Moiseeva E.V., Stewart R.J., Ziekman P.G., Koten J.W.* (2008) Cancer Immunol. Immunother., [Epub ahead of print].
22. *Ahmadzadeh M., Rosenberg S.A.* (2006) Blood, **107**, 2409-2414.
23. *Lissoni P., Bordin V., Vaghi M., Fumagalli L., Bordoni A., Mengo S., Bucovec R., Fumagalli E., Malugani F., Ardizzoia A., Giani L., Gardani G.S., Tancini G.* (2002) Anticancer Res., **22**(2B), 1061-1064.

Поступила: 15. 02. 2008.

ANTITUMOR ACTIVITY OF THE PLANT REMEDY PEPTIDE EXTRACT PE-PM IN A NEW MOUSE T-LYMPHOMA/LEUKEMIA MODEL

A.V. Chaadaeva, I.I. Tepkeeva, E.V. Moiseeva, E.V. Svirshchevskaya, V.P. Demushkin

Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS, Miklukho-Maklaya St, 16/10,
Moscow, 117997 Russia, tel.: (495) 330-64-38, 330-74-92; fax: (495)330-64-38;
e-mail: tepkeeva-inna@yandex.ru

A new mouse ASF-LL model of adult T-lymphoma/leukemia (ATLL) in humans was characterized by cytological, histopathological, and flow cytometry analyses. Encouraging similarities of morphological, pathological, and clinical signs were found. These included characteristic flower appearance of leukemic cells, lymphadenopathy and hepatosplenomegaly, multiple growths in the skin, urogenital tissues, lungs and pituitary gland, CD4+CD25+ phenotype of the majority of tumor cells that were selectin-L positive, a rapid clinical course, and poor response to standard chemotherapy. Plant peptides obtained from the traditional Russian herbal medicine have gradually gained considerable attention as a new source of anticancer drugs. We have tested antitumor activity of a peptide extract PE-PM obtained from a mixture of *Chelidonium majus* L., *Inula helenium* L., *Equisetum arvense* L. and *Inonotus obliquus* in new mouse T-lymphoma/leukemia model ASF-LL. Distinct antitumor activity of two local injections of the peptide extract PE-PM was detected by tumor growth inhibition and survival improvement of 33% of recipients bearing intraperitoneal form of ASF-LL.

Key words: leukemia, lymphoma, adult T-lymphoma/leukemia (ATLL), plant peptides, antitumor activity.