

АКТИВНІСТЬ АМІНОТРАНСФЕРАЗ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ПРИ ЗЛОЯКІСНОМУ РОСТІ КАРЦИНОМИ ГЕРЕНА ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОГО ПРЕПАРАТУ

Встановлено, що злоякісний ріст призводить до зростання активності досліджуваних ферментів. Показано, що введення антиоксидантного препарату сприяє нормалізації активності амінотрансфераз у сироватці крові та проявляє значний гальмівний ефект на ріст пухлини.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: карцинома Герена, амінотрансферази, антиоксидант.

ВСТУП. Щорічно у світі реєструють близько 6 млн нових випадків захворювання на злоякісні пухлини. При цьому в жінок поширеним є рак матки (аденокарцинома), що займає четверте місце після раку молочної залози, шкіри та шлунково-кишкового тракту (ШКТ). Захворюваність на рак тіла матки (РТМ) постійно зростає, в Україні цей показник становить 26,4 випадку на 100 тис. населення. Починають хворіти жінки переважно віком 40–54 роки, досягаючи піку захворювання до 60–64 років [4, 10]. Карцинома Герена (КГ) на сьогодні є оптимальною моделлю для дослідження даної патології, вона являє собою штамп перевиваючого модифікованого раку щурів, отриманий із спонтанної аденокарциноми щурів.

На сьогодні експериментальними і клінічними дослідженнями переконливо доведена перспективність використання засобів природного походження в комбінованій терапії онкологічних захворювань. Особливий інтерес викликають препарати, які підвищують протипухлинну резистентність, перешкоджають розвитку метастазів і рецидивів пухлин, знижують токсичні прояви хіміотерапії. Отже, застосування препаратів, здатних нормалізувати стан фізіологічної антиоксидантної системи і підвищити здатність організму протистояти пухлинному процесу, є важливим для онкології [6, 7].

© Я. Б. Раєцька, Т. В. Іщук, О. О. Моргаєнко, Л. І. Остапченко, 2013.

При злоякісному розвитку пухлин суттєво змінюються біохімічні показники в організмі як людини, так і тварини [8]. У зв'язку з цим, метою даної роботи було відтворити експериментальну модель аденокарциноми та оцінити активність аспаратамінотрансферази (АсАТ, КФ 2.6.1.1) та аланінамінотрансферази (АлАТ, КФ 2.6.1.2) крові в щурів при злоякісному рості за умов введення досліджуваного препарату "GRIN".

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди проводили на 130 білих лабораторних щурах-самках масою (180±20) г, яких утримували на стандартному раціоні віварію.

Тваринам трансплантували карциному Герена шляхом підшкірної ін'єкції в ділянку стегна задньої кінцівки 20 % суспензії пухлинних клітин на 0,9 % розчині NaCl, отриманих від щура-донора [1, 4].

Частині щурів щоденно протягом 25-ти днів після прищеплення пухлини вводили досліджуваний препарат у різних дозах. Контрольний групі тварин із КГ вводили 1 мл 0,9 % NaCl. На 7-му добу після прищеплення починали визначати об'єм пухлини до 25-ї доби.

Тварин під легким ефірним наркозом декапітували через 25 днів після прищеплення пухлини.

Для одержання сироватки крові периферичну кров витримували впродовж 40 хв у термостаті при температурі 28 °С. Сироватку крові відбирали після центрифугування крові при 2500 г через 30 хв [5].

Ферментативну активність визначали за допомогою біохімічного аналізатора Humalyser 3000 з використанням набору для колориметричного визначення активності АсАТ та АлАТ [3].

Статистичний аналіз здійснювали за допомогою прикладних програм статистичного аналізу Microsoft Excel. Для оцінки міжгрупових відмінностей застосовували параметричний критерій Стюдента. Різницю між показниками вважали статистично значущою при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Застосування препаратів, здатних нормалізувати стан фізіологічної антиоксидантної системи і підвищити здатність організму протистояти пухлинному процесу, є важливим і становить один із провідних напрямків комплексних онкологічних досліджень [2, 4, 9].

Таким є препарат "GRIN", розроблений компанією "Ворлд гринизейшен систем" (Україна), який являє собою порошкову форму очищених білкових фракцій голонтурії далекосхідної і вермікультури, виготовлених за спеціальною технологією "GRINIZATION"® (неферментативна, багатоступінчаста, низькотемпературна), що дозволяє уникати денатурації білків, збільшувати їх біодоступність, зберігати глобулярний стан з повним збереженням регуляторних пептидів ядерних ДНК та їх функціональних властивостей.

На першому етапі наших досліджень було визначено вплив препарату на ріст КГ у щурів із прищепленою карциномою Герена. В ході дослідження отримано такі дані (табл. 1).

Було показано, що досліджуваний препарат має стабілізуючий вплив на злоякісний

ріст карциноми Герена. Даний ефект спостерігали переважно на 18-ту і 23-тю доби після прищеплення пухлини порівняно з пухлинним контролем (карцинома Герена). Середній об'єм пухлини постійно зростає, досягаючи максимального значення на 23-тю добу, при введенні препарату "GRIN" у дозі 200 мг/кг він був меншим у 2,2 раза порівняно з пухлинним контролем.

При порівняльному вивченні дії трьох варіантів доз досліджуваного препарату на щурів із прищепленою карциномою Герена ми дійшли висновку, що найефективнішою експериментально встановленою дозою є 200 мг/кг, дане спостереження було зроблено за двома критеріями: величиною гальмування росту пухлини та збільшенням тривалості життя щурів відносно контролю. Встановлено, що даний препарат проявляє стабілізуючий вплив лише у наведених дозах, тоді як за умов введення препарату в дозах 500 мг/кг та вище було показано зворотний ефект.

Отримані результати вказують на перспективи подальшого вивчення біохімічних механізмів впливу досліджуваного препарату. Біохімічні параметри крові є інтегральними до оцінки організму, одним із найбільш інформативних показників слугує активність амінотрансфераз.

Було визначено активність амінотрансфераз (АсАТ і АлАТ) у сироватці крові щурів із прищепленою карциномою Герена при застосуванні препарату "GRIN" (табл. 2, 3).

Як свідчать наведені у таблиці 2 дані, у щурів із КГ, які не отримували досліджуваного препарату, активність АсАТ у сироватці крові зростала в 3 рази порівняно з контрольною групою.

Таблиця 1 – Середні об'єми карциноми Герена в щурів за умов введення препарату "GRIN"

Доба після прищеплення пухлини	Група тварин			
	КГ, мм ³	КГ+"GRIN" у дозі 10 мг/кг	КГ+"GRIN" у дозі 100 мг/кг	КГ+"GRIN" у дозі 200 мг/кг
8-ма	3,16±0,1	1,55±0,2*	1,9±0,1*	1,48±0,1*
11-та	16,7±2,3	15,87±0,8	14,0±10,5	9,12±0,6*
15-та	31,92±3,1	29,01±1,5	27,21±1,6	22,56±0,9*
18-та	60,53±5,6	54,12±5,4	50,34±3,9	30,64±1,8*
23-тя	96,35±26,2	83,09±5,5	66,18±4,9	37,76±2,1*

Примітка. Тут і в наступних таблицях: * – $p < 0,05$ порівняно з КГ.

Таблиця 2 – Активність АсАТ у сироватці крові (Од/л) щурів із карциномою Герена за умов введення препарату "GRIN"

Доба після прищеплення пухлини	Група тварин				
	контроль	КГ	КГ+"GRIN" у дозі 10 мг/кг	КГ+"GRIN" у дозі 100 мг/кг	КГ+"GRIN" у дозі 200 мг/кг
15-та	37,1±0,12	200,6±0,6	146,7±0,2*	127,1±0,4*	130,9±0,5*
18-та	35,12±0,2	163,7±0,5	73,7±0,1*	85,2±0,2*	62,2±0,1*
23-тя	31,1±0,1	109,1±0,1	68,7±1,5*	59,2±0,3*	53,1±0,1*

Таблиця 3 – Активність АлАТ у сироватці крові (Од/л) щурів із карциномою Герена при застосуванні досліджуваного препарату “GRIN”

Доба після прищеплення пухлини	Група тварин				
	контроль	КГ	КГ+“GRIN” у дозі 10 мг/кг	КГ+“GRIN” у дозі 100 мг/кг	КГ+“GRIN” у дозі 200 мг/кг
15-та	45,1±3,13	137,1±0,1	101,1±0,2*	96,9±0,1*	103,4±0,1*
18-та	44,3±3,1	126,7±0,3	82,2±0,8*	80,2±0,5*	55,2±0,6*
23-тя	42,1±2,3	91,2±0,1	60,7±0,5*	56,8±0,6*	49,2±0,9*

У щурів із прищепленою КГ, які отримували досліджуваний препарат (у дозах 10, 100 та 200 мг/кг), активність АсАТ у сироватці крові змінювалась. У тварин, які одержували препарат у дозах 100 та 200 мг/кг, ми спостерігали поступове зниження активності АсАТ, порівняно з групою щурів із КГ, переважно на 18-ту і 23-тю доби після прищеплення пухлини, значення якої наближалися до нормальних. Так, у тварин, які отримували препарат у дозах 100 та 200 мг/кг, активність АсАТ зменшувалася майже у 2 рази порівняно з групою щурів із КГ, що може свідчити про поступове відновлення функцій певних органів (табл. 2).

При визначенні активності АлАТ у сироватці крові щурів за умов злоякісного росту було виявлено зміни (табл. 3).

Так, у щурів із КГ, які не отримували досліджуваного препарату, активність АлАТ у сироватці крові зростала у 2 рази порівняно з контрольною групою. У тварин із прищепленою КГ, які одержували препарат “GRIN” у досліджуваних дозах, активність АлАТ у сироватці крові поступово змінювалась. У групах, які отримували препарат у дозах 100 та 200 мг/кг, активність ферменту поступово знижувалася в 1,5–2 рази переважно на 23-тю добу після прищеплення пухлини і наближалася до фізіологічної норми.

Отже, встановлено, що злоякісний ріст призводить до зростання активності ферментів АсАТ і АлАТ. Показано, що введення досліджуваного препарату сприяє нормалізації цих біохімічних показників крові та проявляє значний гальмівний ефект на ріст пухлини.

На нашу думку, виявлені відмінності зумовлені позитивним впливом препарату “GRIN” на органний кровотік і мікроциркуляторне русло/мікроциркуляцію внутрішніх органів, а також на попередження розвитку катаболічних реакцій, що розвиваються внаслідок канцерогенезу.

ВИСНОВКИ. 1. Показано динаміку зменшення середнього об'єму КГ у щурів при застосуванні різних доз препарату “GRIN”. Отримані результати свідчать про те, що найефективнішою була доза препарату 200 мг/кг. При використанні препарату в зазначеній дозі спостерігали гальмування росту КГ майже в 3 рази.

2. Встановлено підвищення активності АсАТ і АлАТ у сироватці крові щурів при злоякісному рості КГ. Виявлено, що показники активності АсАТ та АлАТ наближалися до фізіологічної норми в щурів із прищепленою КГ, які отримували препарат “GRIN” у дозі 200 мг/кг.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андрушкевич В. В. Биохимические показатели крови, их референсные значения, причины изменения уровня в сыворотке крови / В. В. Андрушкевич. – Новосибирск, 2006. – 76 с.
2. Барабой В. А. Перекисное окисление и радиация / В. А. Барабой, В. Э. Орел, И. М. Карнаух. – К. : Наук. думка, 1991. – 256 с.
3. Інструкція для роботи з біохімічним аналізатором Humalyzer 3000.

4. Кавецкий Р. Е. Реактивность организма и опухолевой рост. – К. : Наук. думка, 1981. – 432 с.
5. Карпищенко А. И. Медицинские лабораторные технологии и диагностика : справочник : в 2 т. / А. И. Карпищенко. – СПб. : Интермедика, 1999. – С. 27–28.
6. Методические рекомендации по применению биологически активных добавок к пище производства ООО “Биолит” в профилактике и комплексном

лечении / А. И. Венгеровский, Э. И. Белобородова, Г. И. Калинкина, Н. К. Бычкова. – Томск, 2008. – 90 с.

7. Невожай В. И. Советы онкологическому больному (если вам предстоит лечение) / В. И. Невожай, С. В. Юдин. – Владивосток, 2003. – 35 с.

8. Чорна І. В. Методичні вказівки до занять з дисципліни “Клініко-лабораторна діагностика” / І. В. Чорна, І. Ю. Висоцький. – Суми : Сумський державний університет, 2011. – 130 с.

9. Immunohistochemical Expression of TGF- β 1 Predicts a Poor Prognosis in Cervical Cancer Patients

who Harbor Enriched Endoglin Microvessel Density / H. Lin, C. C. Huang, Y. C. Ou [et al.] // Int J Gynecol Pathol. – 2012. – № 5. – P. 482–489.

10. The biochemical parameters of blood, antioxidant system and lipid peroxidation processes under malignization in rats in condition of antioxidant substance treatment. Poland. Przemysl / Ya. B. Raetska, O. O. Morgaienko, R. S. Demyanenko, L. I. Ostapchenko // Journal Nauka i Studia. Biologiczne nauki. – 2012. – № 4. – P. 17–20.

Я. Б. Раецкая, Т. В. Ищук, А. А. Моргаенко, Л. И. Остапченко
УНЦ “ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ” КИЕВСКОГО НАЦИОНАЛЬНОГО УНИВЕРСИТЕТА ИМЕНИ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

АКТИВНОСТЬ АМИНОТРАНСФЕРАЗ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОМ РОСТЕ КАРЦИНОМЫ ГЕРЕНА В УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНОГО ПРЕПАРАТА

Резюме

Установлено, что злокачественный рост приводит к возрастанию активности исследуемых ферментов. Показано, что введение антиоксидантного препарата способствует нормализации активности аминотрансфераз в сыворотке крови и проявляет значительный тормозящий эффект на рост опухоли.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: карцинома Герена, аминотрансферазы, антиоксидант.

Ya. B. Rayetska, T. V. Ishchuk, O. O. Morgaienko, L. I. Ostapchenko
TARAS SHEVCHENKO KYIV NATIONAL UNIVERSITY,
ESC “THE INSTITUTE OF BIOLOGY”

ACTIVITY OF AMINOTRANSFERASES IN DYNAMICS UNDER THE MALIGNANT GROWTH IN CONDITION ABOUT THE ANTIOXIDANT SUBSTANCE INTRODUCTION

Summary

The results obtained indicate increased activities of the aminotransferases under the malignant growth. It was shown that the introduction of an antioxidant substance contributed to normalization of aminotransferases' activities and significantly inhibited tumor growth.

KEY WORDS: Guerin's carcinoma, aminotransferases, an antioxidant.

Отримано 28.10.13

Адреса для листування: Я. Б. Раецька, пр-т Глушкова 2/12, ННЦ “Інститут біології” Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Київ, 03127, Україна, e-mail: raetska@ya.ru.