



УДК 577.1

СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ І ПРОЦЕСІВ ПОЛ ПРИ ЗЛОЯКІСНОМУ РОСТІ У ЩУРІВ З РЕЗИСТЕНТНОЮ ФОРМОЮ КАРЦИНОМИ ГЕРЕНА ЗА УМОВ ВЕДЕННЯ «ГРІНІЗАЦІЯ ГРІН R»

Раєцька Я.Б., Строцька Є.А., Хіміч М.В., Преображенська Т.Д., Остапченко Л.І.

Інститут біології, Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Київ, Україна,
e-mail: mykolah@rambler.ru

Надійшла до редакції 03.06.2011

Показано, що наявність в організмі злоякісних новоутворень призводить до суттєвого порушення окислительно-антиоксидантного гомеостазу (посилення процесів перекисного окислення ліпідів та зміни функціонування антиоксидантної системи). Експериментальне застосування препарату «Грінізація ГРІН R» призводить до нормалізації показників вільнорадикального окислення ліпідів та активації антиоксидантних процесів, що передбачає розгляд препарату в якості потенційного антиоксидантного засобу з протипухлинною дією.

Ключові слова: перекисне окислення ліпідів, каталаза, супероксиддисмутаза, біологічно активні речовини, резистентність, карцинома Герена.

ВСТУП

Вивчення біохімічних механізмів злоякісного росту з виявленням можливих підходів до його корекції за допомогою біологічно активних речовин становить один з провідних напрямків комплексних онкологічних досліджень. Злоякісні пухлини розвиваються на фоні перебудови нейрогуморального й метаболічного статусу організму [1,2]. Характер і спрямованість злоякісного процесу в значній мірі визначаються станом реактивності організму. Процеси вільнорадикального окиснення ліпідів займають важливе місце при розвитку пухлини [3,4]. Проходження реакцій вільнорадикального окиснення в ліпідному субстраті сприяє утворенню різноманітних продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), які здатні гальмувати проліферативну активність клітин. Зниження концентрації вільних радикалів призводить до прискорення клітинного поділу. Значну роль у регуляції ПОЛ відіграють інгібітори вільнорадикальних реакцій - антиоксиданти. Високий рівень антиоксидантів у тканинах пухлини сприяє їх проліферативній активності. В умовах злоякісного росту пухлина інтенсивно накопичує біоантиоксиданти з крові, забезпечуючи тим самим умови для подальшої пухлинної прогресії і росту. При цьому ресурси фізіологічної антиоксидантної системи (ФАОС) виснажуються, протипухлинна реактивність організму знижується, що є передумовою подальшого пухлинного росту. Вищевикладене дає підстави вважати, що показники ПОЛ і активності антиоксидантних систем (АО-систем) захисту дають важливу інформацію про перебіг злоякісного процесу й важкість стану організму пухлиноносія [6].

На сьогоднішній день експериментальними і клінічними спостереженнями переконливо доведена перспективність використання засобів природного походження в комбінованій терапії онкологічних захворювань [4,5,15]. Дуже часто основною причиною терапевтичних невдач у лікуванні хворих на рак є формування резистентності пухлин до різних хіміопрепаратів. Тому особливий інтерес викликають препарати, що підвищують протипухлинну резистентність, що перешкоджають розвитку метастазів і рецидивів пухлин, що знижують токсичні прояви хіміотерапії. Крім класичної фітотерапії, де використовуються окремі рослини, на основі трав'яних зборів нині у світі випускається близько 1200 харчових добавок (БАД), які широко застосовуються в комплексному лікуванні і для профілактики захворювань. Отже, застосування препаратів здатних нормалізувати стан фізіологічної антиоксидантної системи і підвищити здатність організму протистояти пухлинному процесу є важливим для онкології [3,4,14].

Одним з таких препаратів є «Грінізація Грін R» - розроблений компанією «Ворлд грінізейшен систем» Україна, представляє собою порошкову форму очищених білкових фракцій голотурії далеосхідної і вермікультури, зроблених по спеціальній технології (не ферментативній, багатоступінчатій, низькотемпературній), що дозволяє уникнути денатурації білків, збільшити їх біодоступність, зберегти глобулярний стан з повним збереженням регуляторних пептидів ядерних ДНК та їх функціональних якостей.

Метою нашої роботи було дослідження показників ПОЛ і ферментів антиоксидантної системи

в органах (головному мозку, печінці та селезінці) тканині шурів з резистентною карциномою Герена у динаміці її росту за умов введення «Грінізація Грін R».

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Досліди проводились на 100 білих лабораторних щурах-самках масою 180 ± 20 г, яких утримували на стандартній дієті віварію. Тваринам трансплантували резистентну карциному Герена шляхом підшкірної ін'єкції у ділянку стегна задньої кінцівки 20%-ної суспензії пухлинних клітин на 0,9%-ному розчині NaCl, отриманих від щурів-донора [1,2] (штам пухлини наданий Інститутом експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р.Кавецького НАН України). Частини тварин щоденно протягом 21-ї доби після прищеплення пухлини вводили дослідний препарат в різних дозах. Піддослідні тварини були розділені на 4 групи: 1 - контроль, інтактні щури, що отримували розчин NaCl - 1 мл.; 2 - щури з прищепленою резистентною карциномою Герена, що отримували розчин NaCl - 1 мл.; 3 - щури з прищепленою резистентною карциномою Герена, що отримували препарат в дозі 90 мг/кг; 4 - щури з прищепленою резистентною карциномою Герена, що отримували препарат в дозі 136 мг/кг.

Тварин під легким ефірним наркозом декапітували через 21 добу після перевивання пухлин.

Вміст білка у гомогенатах оцінювали з використанням методу Грінберга [7]. Вміст вторинних продуктів ПОЛ оцінювали у реакції з тіобарбітуровою кислотою згідно (ТБК) [8]. Активність каталази визначали згідно [9] за калібрувальною кривою з використанням препарату каталази еритроцитів бика

(“Sigma”, США). Активність загальної супероксиддисмутази (СОД) оцінювали за методом, описаним у роботі [10] за здатністю ферменту конкурувати з нітросинім тетразолієм за супероксид-аніон, який генерується в результаті взаємодії НАДН та феназинметасульфату.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням програми OriginLab 8.0. Зміни показників вважали достовірними при $p < 0,05$; при $p > 0,05$ зміни враховували як тенденцію [11].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Сьогодні відомо патогенетичне значення інтенсифікації процесів ПОЛ і зниження антиоксидантної активності при онкологічних захворюваннях. Так, у ряді біохімічних досліджень показано зростання ПОЛ при злоякісному рості [12,13]. У основі розвитку ланцюгових вільнорадикальних реакцій лежить порушення рівноваги між антиоксидантними та прооксидантними системами організму. Антиоксидантна система захисту організму контролює і гальмує всі етапи вільнорадикальних реакцій, починаючи від їх ініціації і закінчуючи утворенням гідроперексидів та МДА.

Проведено дослідження інтенсивності вільнорадикального окиснення ліпідів та активності антиоксидантних ферментів – супероксиддисмутази і каталази - у тканинах печінки, селезінки та мозку шурів з резистентною формою карциноми Герена за дії препарату «Грінізація ГРІН R» у дозах 90 та 136 мг/кг.

Таблиця 1

Вміст ТБК-активних продуктів в гомогенаті різних органів (нмоль/мг білка) у шурів з резистентною карциномою Герена за умов введення «Грінізація Грін R».

Групи тварин, умови дослідів	ТБК, нмоль/мг		
	Печінка	Селезінка	Мозок
Контроль	78,47 $\pm$ 2,78	67,29 $\pm$ 2,29	58,8 $\pm$ 1,69
РКГ	256,62 $\pm$ 27,56*	190,3 $\pm$ 27,21	97,61 $\pm$ 10,27*
РКГ + 90мг/кг	176,52 $\pm$ 3,43*	126,49 $\pm$ 26,38	115,08 $\pm$ 2,09*
РКГ + 136мг/кг	112,88 $\pm$ 10,21*	117,85 $\pm$ 38,04	101,03 $\pm$ 10,43*

Примітка: РКГ - резистентна карцинома Герена

* - вірогідні зміни порівняно з РКГ тваринами ($p < 0,05$).

Відмічено зростання вмісту тіобарбітурат-активних продуктів (ТБАП) у печінці, селезінці та мозку шурів за росту резистентної карциноми Герена у 2-3 рази у порівнянні з інтактним контролем (табл. 1). Встановлено, що препарат «Грінізація ГРІН R» призводить до зниження інтенсивності ліпопероксидації в печінці та селезінці шурів. Так, препарат у дозі 90 мг/кг виявляв активність по відношенню до резистентної форми карциноми Герена, знижуючи вміст ТБАП в печінці шурів з карциномою у 1,9 рази, у селезінці в 1,5 рази у порівнянні з селезінкою шурів з пухлинами.

Показано, що препарат у дозі 136 мг/кг призводить до ще більшого зниження вмісту продуктів ПОЛ, як печінці так і в селезінці шурів з резистентною пухлиною порівняно з групою шурів з резистентною карциномою, які не отримували препарату. Відмічено, що досліджуваний препарат майже не вплинув на вміст ТБК-АП в тканинах головного мозку. Таким чином, препарат «Грінізація ГРІН R» більш ефективно сприяє зниженню інтенсивності ПОЛ в печінці та селезінці шурів при застосуванні вищої дози препарату. Однак отримані показники вмісту продуктів ПОЛ у печінці та селезінці шурів з

пухлинами були достовірно вищими від контрольних значень.

Відомо, що порушення інтенсивності ПОЛ в результаті злоякісного росту супроводжувалося

змінами активності ферментів антиоксидантної системи, тому наступним етапом нашої роботи було дослідження активності супероксиддисмутази та каталази [4,12].

Таблиця 2

Активність СОД ум. од. / (мг білку * хв.) у гомогенатах печінки, селезінки та мозку, нирок у щурів з резистентною карциномою Герена за умов введення «Грінізація Грін R».

Групи тварин, Умови досліджу	СОД, у.о./мг білка		
	Печінка	Селезінка	Мозок
Контроль	2,49±0,05	1,51±0,04	1,9±0,03
РКГ	1,47±0,02*	0,82±0,05*	1,43±0,05*
РКГ + 90мг/кг	1,66±0,25*	0,77±0,04*	1,32±0,09
РКГ + 136мг/кг	1,69±0,02*	1,20±0,14*	1,5±0,09

Дані по активності загальної супероксиддисмутази (СОД), відображені в табл. 2, вказують на те, що ріст злоякісних пухлин супроводжується зниження активності даного ферменту в 1,5-2 рази у всіх досліджуваних органах щурів порівняно з інтактними тваринами. Введення препарату «Грінізація ГРІН R» у дозі 90 мг/кг призводило до незначного зростання активності СОД лише в печінці щурів з резистентною карциномою Герена. Продемонстровані в таблиці результати вказують на те, що у вищій дозі препарат «Грінізація

ГРІН R» сприяє підвищенню активності СОД в усіх досліджуваних органах щурів з резистентною формою порівняно групою яким не вводили дослідний препарат, наближаючи показник активності до значень, які спостерігалися у контролі. Отже, препарат у обох використаних дозах обумовлює незначне зростання активності СОД в тканинах печінки, селезінки та мозку з резистентною формою карциноми Герена у порівнянні з відповідним контролем пухлинного росту.

Таблиця 3

Активність каталази мкмоль пероксиду водню/(мг білку*хв.), у гомогенатах печінки, селезінки та мозку, нирок у щурів з резистентною карциномою Герена за умов введення «Грінізація Грін R».

Групи тварин, Умови досліджу	Каталаза, у.о./мг білка		
	Печінка	Селезінка	Мозок
Контроль	192,83±45,7	119,47±9,37	135,59±8,73
РКГ	91,79±8,55	55,7±10,13*	60,68±1,56*
РКГ + 90мг/кг	218,40±8,09	100,8±65,5*	117,99±17,4
РКГ + 136мг/кг	205,22±52,3	101,61±2,61	67,85±13,9*

Активність каталази у печінці, селезінці та мозку щурів з резистентною карциномою Герена знижувалася порівняно з контрольною групою тварин в 2-2,5 рази, пов'язаного з ростом резистентної карциноми Герена. (табл. 3). Введення препарату у дозі 90 мг/кг призводить до зростання активності каталази в 1,5-2 рази у всіх досліджуваних органах щурів з резистентною пухлиною. У дозі 136 мг/кг препарат «Грінізація ГРІН R» спричинює зростання активності каталази, також призводячи до нормалізації значень даного показника.

Отже, на підставі проведених досліджень встановлено, що злоякісний ріст призводить до змін значень пероксидного окислення ліпідів. Порушення інтенсивності ПОЛ в результаті злоякісного росту супроводжувалося змінами активності ферментів антиоксидантної системи. Показано, що введення дослідного препарату сприяє нормалізації процесів пероксидації. Нами було показано, що дослідний препарат «Грінізація Грін R» проявляє значний гальмівний ефект на ріст резистентної пухлини. Отже, можна зробити висновок, за умов введення досліджуваного препарату «Грінізація Грін R» в

різних дозах прослідковувалася спільна тенденція, однак, за умов введення більшої дози препарату, вплив був ефективнішим.

ВИСНОВКИ

Встановлено, що злоякісний ріст резистентної форми карциноми Герена призводить до зростання значень пероксидного окислення ліпідів в 2-3 рази в усіх досліджуваних органах порівняно з контрольною групою.

Досліджено, що порушення інтенсивності ПОЛ в результаті злоякісного росту супроводжувалося зниженням активності ферментів антиоксидантної системи в 1,5-2,5 рази в тканинах печінки, селезінки та мозку щурів.

Показано, що введення дослідного препарату «Грінізація Грін R» сприяє нормалізації процесів пероксидації, проявляє значний гальмівний ефект на ріст резистентної пухлини. В різних дозах прослідковувалася спільна тенденція, однак, за умов введення більшої дози препарату 136 мг/кг, вплив був ефективнішим.

Література

1. *Кавецкий Р.Е.* Реактивность организма и опухолевый рост. Киев: Наук.думка, 1981. 432 с.
2. *Димант И.И., Шарипов Р.К., Муратходжаев Н.К. и др.* Окислительные процессы и опухолевый рост. Ташкент: Изд.-полиграф. объединение им. Ибн.Сины, 1992. 155 с.
3. *Raetska Ya.B., Belokon U.N., Baraboy V.A., Ostapchenko L.I.* Correction of oxidant-antioxidant homeostasis in rats with Geren carcinoma in radiotherapy // *Фізика живого*. – 2003. – Vol. 11, №1. – С.89-94.
4. *Расецкая Я.Б., Білокінь Ю.М., Прокопова К.В., Лукашкова К.В.* Оцінка дії антиоксиданту (проантоціанидину) на злоякісний ріст при променевої терапії // *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Біологія*. – 2003. – Вип.41. – С.118-120.
5. *Amagava S., Ogihara Y.* Effects of shosaikoto, an oriental herbal medicinal mixture, on restraaml-stressed mice // *J.Ethnopharmacol.* 1990. – Vol. 28. – N 3. – P.357-363.
6. *Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М.* Перекисное окисление и радиация. К.: Наук. думка, 1991. 256 с.
7. *Greenberg C.S., Craddock P.R.* // *Clin Chem.* – 1982. – V. 28, 7. – P. 1725-1726.
8. *Современные методы в биохимии* / Под. ред. В.Н.Ореховича. – М., 1977.
9. *Королюк М.А., Иванова Л.И., Монгарева В.Е. и др.* // *Лаб. дело*. -1988. -№ 1.- С. 16-19.
10. *Nishikimi M., Roa N.A., Yogi K.* // *J. Biochem. Biophys. Res. Commun.* -1972. – V.46. – P. 849-854.
11. *Лакін Г.Ф.* Биометрия: Учебное пособие для биол. спец. вузов- 4-е изд., перераб. и доп. М.: Высш. шк., 1990. — 352 с.: ил
12. *Димант И.И., Шарипов Р.К., Муратходжаев Н.К. и др.* Окислительные процессы и опухолевый рост. Ташкент: Изд.-полиграф. объединение им. Ибн.Сины, 1992. 155 с.
13. *Bagchi D., Garg A., Krohn R.L., Bagchi M., Bagchi D.J., Balmoori J. and Stohs S.J.* // *Gen. Pharmac.* 2005. 30, N 4. P. 1—6.
14. *Богущ Т.А., Богущ Е.А., Степанов А.А.* Современные подходы к повышению эффективности противоопухолевой терапии путем индивидуальной оптимизации лечения и избирательного снижения побочных токсических проявлений цитостатиков // *Антибиотики и химиотерапия*. 2000. Т. 45, № 1.С. 32-38.
15. *Е.Д. Гольдберг, Е.П. Зуева,* Препараты из растений в комплексной терапии злокачественных новообразований. Томск, 2000., 129с.

СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ И ПРОЦЕССОВ ПОЛ ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОМ РОСТЕ У КРЫС С РЕЗИСТЕНТНОЙ ФОРМОЙ КАРЦИНОМЫ ГЕРЕНА ПРИ УСЛОВИИ ВВЕДЕНИЯ «ГРИНИЗАЦИЯ ГРИН R»

Расецкая Я.Б., Строчкая Е.А., Химич Н.В., Преображенская Т.Д., Остапченко Л.И.

Показано, что присутствие в организме злокачественных новообразований приводит к существенному нарушению оксидантно-антиоксидантного гомеостаза (усиление процессов перекисного окисления липидов и изменения функционирования антиоксидантной системы). Экспериментальное использование препарата «Гринизация ГРИН R» приводит к нормализации показателей свободнорадикального окисления липидов и активации антиоксидантных процессов, что допускает рассмотрение препарата в качестве потенциального антиоксидантного препарата с противоопухолевым действием.

Ключові слова: перекисное окисление липидов, каталаза, супероксиддисмутаза, биологически активные вещества, резистентность, карцинома Герена.

ANTIOXIDANT SYSTEM AND PROCESSES POL MALIGNANT GROWTH IN RATS WITH RESISTANT GUERIN'S CARCINOMA WITH THE INTRODAKTION OF "GRINIZATSIYA GREENE R»

Raetska Ya.B., Strotska E.A., Khimich M.V., Preobrajenska T.D., Ostapchenko L.I.

It is shown that the presence in the body of malignant tumors leads to significant disturbance of oxidative-antioxidative homeostasis (increased lipid peroxidation and changes in the antioxidant system function). Experimental admission of the compound "Grinization Green R" leads to normalization of indicators of free radical oxidation of lipids and activation of the antioxidant processes, that predict the consideration of the compound as a potential antioxidant product with antitumor effects.

Keywords: lipid peroxidation, catalase, superoxide dismutase, biologically active substances, resistance, Guerin's carcinoma.