

О.О. Хавич, І.Ф.Мещишен

ВПЛИВ НАСТОЯНКИ БОЛИГОЛОВУ ПЛЯМИСТОГО НА СТАН ОКСИДАНТНОЇ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ КРОВІ ЩУРІВ З КАРЦИНОМОЮ ГЕРЕНА

Кафедра медичної хімії (зав. - проф. І.Ф.Мещишен)
Буковинської державної медичної академії

Ключові слова: оксидантна система, антиоксидантна система крові, карцинома Герена, настоянка болиголову плямистого.

Резюме. Введення тваринам настоянки болиголову плямистого протягом 14 діб зменшує в крові вміст сполук з ізольованими подвійними зв'язками на 21%, дієнових кон'югатів на 19%, кетодієнів та спряжених трієнів на 22%, малонового діальдегіду на 17% в порівнянні з нелікованими тваринами. Показано позитивну тенденцію до нормалізації активності антиоксидантних ферментів глутатіонової системи.

Вступ. Однією з основних причин, що лімітують ефективність хіміотерапії у онкологічних хворих, є висока резистентність субпопуляції пухлинних клітин [15]. Зараз широко проводиться дослідження з подолання цієї резистентності [5]. Метою нашого дослідження було вивчення стану оксидантної та антиоксидантної систем крові щурів з карциномою Герена, а також впливу болиголову плямистого на ці системи організму.

Матеріали і методи. Експериментальне дослідження проводили на 60 білих безпорідних щурах-самках масою 110 ± 10 г, які утримувались в умовах і на раціоні віварію. Карциному Герена перевивали під шкіру тулуба у вигляді подрібненої пухлинної тканини розведеної стерильним фізіологічним розчином NaCl [12, 13]. Відсоток гальмування росту пухлини та відсоток збільшення тривалості життя визначали за [12]. Тварин поділили на групи: I групу (n=12) склали інтактні тварини, II групу (n=24) - щури з пухлиною без лікування, III групу (n=24) - щури з пухлиною, які отримували настоянку болиголову плямистого. Настоянку болиголову плямистого (НБП), суміш листя, квітів, насіння 1:10 на 70% етиловому спирті вводили щоденно інтрагастрально в дозі 0,05мл/100г маси, починаючи з 3-ї доби після перевивки пухлини. Тварин забивали під легким ефірним наркозом на 3,7,14 добу введення препарату. Кров відбирали в присутності ЕДТА (1мг/мл цільної крові). В крові визначали вміст сполук з ізольованими подвійними зв'язками (ПЗ), дієнових кон'югатів (ДК), кетодієнів (КД) та спряжених трієнів (СТ) [2], малонового діальдегіду (МДА) [4], та активність ферментів: глюкозо-6-фосфатгидрогенази (Г6ФДГ), [КФ1.1.1.49] та глутатіонредуктази (ГР), [КФ1.6.4.2] за [7]. Вміст відновленого глутатіону (ВГ) визначали титраційним методом [9]. Про активність глутатіонпероксидази (ГП) [КФ1.11.1.9] судили за кількістю окисленого глутатіону, що утворився при знешкодженні пероксиду водню в глутатіонпероксидазній реакції [3],

каталази (К), [КФ1.11.1.6] за [6]. Активність глутатіон-S-трансферази (ГТ), [КФ2.5.1.18] визначали за кількістю утвореного кон'югату [14]. Кількість церулоплазміну (ЦП) у сироватці крові визначали за [1]. Одержані результати обробляли на комп'ютері, використовуючи t-критерій Стьюдента [10].

Результати та їх обговорення. Злоякісна пухлина є причиною активації оксидантної системи крові щурів (табл.). Так, починаючи з 6-ї доби після перевивання пухлини, підвищився вміст всіх продуктів ПОЛ - ДК, КД і СТ, МДА. По мірі росту пухлини вміст їх зростав і досяг максимальних значень на 17добу - на 84%, 89%, 75% відповідно, в порівнянні з контрольною групою. Вміст сполук з ІПЗ збільшився за цих умов на 45%. Антиоксидантна система організму має складну структуру. Вона складається з кількох окремих, але постійно взаємодіючих систем. Важливим її компонентом є глутатіонова система, яка включає в себе ВГ та глутатіонзалежні ферменти (ГР, ГП, ГТ) [8]. На 6 добу спостерігали значне використання запасів ВГ в крові щурів і виснаження активності Г6ФДГ. На 10 добу, а ще більш суттєво на 17 добу, вміст ВГ в крові зменшувався у порівнянні з інтактними тваринами на 55%, активність Г6ФДГ падала на 31%. Активність ГР за цих умов зросла на 41% в порівнянні з контролем (табл.). Злоякісна пухлина викликає зміну антиоксидантного статусу крові щурів і при цьому антиоксиданти реагують по-різному. Як відомо, першим ферментом захисту проти дії H_2O_2 є ГП. Однак, починаючи з 6-ї доби після трансплантації карциноми Герена в крові тварин реєструвалося зниження активності ГП на 4%, а на 17 добу — на 23% в порівнянні з контролем. Активність каталази, яка теж здатна захищати клітину від дії пероксиду водню, зменшується починаючи з 6 доби на 9%, на 10 добу — на 13%, на 17 добу — на 25% стосовно контрольної групи. Ферментом знешкодження ендотоксинів за умови розвитку злоякісної пухлини є ГТ. Ми визначали її активність як в цільній крові, так і в сироватці. Активність ГТ в цільній крові хворих тварин залишалася незмінною протягом всього експерименту, а в сироватці крові — підвищувалася на 28%. Можна припустити, що різке падіння в крові вмісту ВГ пов'язане з інтенсивним використанням в глутатіонтрансферазній реакції. До антиоксидантів сироватки крові належить ЦП. Це глікопротеїн, який синтезується в печінці і виступає як поліфункціональний білок [11]. Нами встановлено, що в сироватці тварин зростає вміст ЦП на 6 добу — на 26% і на 17 добу — 46%.

Карцинома Герена призводила до посилення вільнорадикальних процесів в організмі; в крові — спостерігається накопичення молекулярних продуктів ПОЛ, різке пригнічення активності глутатіонової захисної системи. Пероральне введення тваринам з карциномою Герена протягом 3-х діб НПБ дещо зменшувало вміст молекулярних продуктів ПОЛ, ЦП, активність ГТ і підвищувало активність Г6ФДГ, ГП, ГР, К, вміст ВГ у порівнянні з нелікованими тваринами (табл.). На 14 добу лікування спостерігали зменшення в крові вмісту сполук з ІПЗ, ДК, КД і СТ, МДА на 21%, 19%, 22%, 17% відповідно. За цих умов збільшується вміст ВГ на 41%, активність Г6ФДГ на 31%, ГР - на 12%, ГП - на 28%, каталази на 41%, тоді як активність ГТ в сироватці зменшується на 11%, а вміст ЦП - на 12% в порівнянні з нелікованими тваринами.

Таблиця
Вплив настоянки болиголову плямистого на стан оксидантної та антиоксидантної систем крові щурів з карциномною Герена (M±m)

Показники	Групи						
	I	II			III		
		6 днів	10 днів	17 днів	3 дні	7 днів	14 днів
Показники							
ШЗ, E ₂₂₀ /мл крові	3.91 ± 0.15	4.56 ± 0.17*	5.28 ± 0.19*	5.67 ± 0.2**	4.09 ± 0.13	4.26 ± 0.16	4.47 ± 0.17*
ДК, E ₂₃₂ /мл крові	1.16 ± 0.1	2.27 ± 0.12*	2.89 ± 0.11*	3.05 ± 0.15**	1.92 ± 0.11	2.28 ± 0.13*	2.48 ± 0.16*
КД і СТ, E ₂₇₈ /мл крові	0.75 ± 0.07	1.00 ± 0.09*	1.12 ± 0.07*	1.43 ± 0.1**	0.83 ± 0.08	1.00 ± 0.06*	1.17 ± 0.09*
МДА, нМ/мл еритроц.	11.34 ± 0.88	14.25 ± 0.93*	17.77 ± 0.85*	19.84 ± 0.90**	11.76 ± 0.73	14.46 ± 0.82*	16.89 ± 0.88*
ВГ, мкМ/мл крові	1.02 ± 0.1	0.63 ± 0.08*	0.49 ± 0.05*	0.46 ± 0.06**	0.75 ± 0.08	0.64 ± 0.07*	0.65 ± 0.06*
Г-6-ФДГ, мкМ НАДФН / хв • г Нв	6.16 ± 0.31	5.79 ± 0.30	5.41 ± 0.25*	4.23 ± 0.21**	5.96 ± 0.28	5.79 ± 0.31	5.55 ± 0.25*
ГР, мкМ НАДФН / хв • г Нв	3.39 ± 0.25	3.71 ± 0.20	3.96 ± 0.19*	4.78 ± 0.22**	3.61 ± 0.17	3.78 ± 0.18	4.20 ± 0.20*
ГП, мМ ГSSГ / хв • мл крові	20.48 ± 1.2	19.78 ± 1.4	18.09 ± 1.3	15.70 ± 1.1**	21.19 ± 1.2	20.39 ± 1.3	20.07 ± 1.1
ГТ, мМ кон'юг./ хв • г Нв	2.39 ± 0.21	2.36 ± 0.15	2.35 ± 0.13	2.36 ± 0.18	2.35 ± 0.13	2.34 ± 0.15	2.33 ± 0.16
ГТ, нМ кон'юг./ хв • мл сироватки	44.1 ± 2.12	48.4 ± 2.81	51.97 ± 3.02*	56.52 ± 3.15*	47.0 ± 2.21	49.57 ± 2.42*	50.76 ± 3.00*
Каталаза, мМ H ₂ O ₂ /хв • г Нв	134.5 ± 8.2	146.8 ± 7.3*	117.2 ± 9.5*	98.7 ± 9.4**	130.5 ± 7.5	133.9 ± 8.1	139.3 ± 7.6
ЩП, мг/1000 мл сироватки	205.4 ± 13.5	258.3 ± 15.8*	280.3 ± 17.3*	300.2 ± 20.1**	232.4 ± 12.8*	244.6 ± 13.5*	262.9 ± 14.1*

Примітка. * - p < 0,05 у порівнянні з контролем, ** - p < 0,01 у порівнянні з контролем

Таким чином, лікування тварин протягом двох тижнів НБП, стабілізувало перебіг процесів пероксидного окислення ліпідів в крові, стимулювало активність ферментів глутатионової системи. Однак слід зазначити, що повної нормалізації вивчених показників при лікуванні вибраною дозою не наставало. Разом з тим тварини, які отримували НБП, прожили, в середньому, на 7 діб довше, ніж неліковані. Тривалість життя останніх становила 22 доби. Визначення відсотку тривалості життя показало, що він становив 31%. Відсоток гальмування росту пухлини настоянкою склав 22,6%, що у три рази менше мінімального критерію активності [13]. Можна припустити, що злоякісний процес не ліквідувався повністю, а дещо гальмувався. Причини такої дії вимагають подальшого вивчення.

Література. 1. Бестужева С.В., Колб В.Г. Справочник по клинической химии. - Минск: Беларусь. - 1982.-290с. 2. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. - М.: Наука. - 1972. - 252с. 3. Власова С.Н., Шабунина Е.И., Пересыгина И.А. Активность глутатионзависимых ферментов эритроцитов при хронических заболеваниях печени у детей // Лаб. дело. - 1990. - N8. - С.19-21. 4. Гончаренко М.С., Латина А.М. Метод оценки перекисного окисления липидов // Лаб. дело. - 1985. - N1. - С.60-61. 5. Доненко Ф.И., Ситдикова А.О., Кабиева Б.Е. Применение ингибиторов глутатиона и глутатионтрансфераз для преодоления резистентности опухолей к цитостатикам в системе *in vivo* // Бюлл. эксп. биол. и мед. - 1995. - Т.119, N2. - С.212-214. 6. Корольюк М.А., Мванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. - 1988. - N1. - С.16-19. 7. Мецишен И.Ф. Влияние этония на гликолиз в печени крыс // Укр. биохим. ж. - 1982. - Т.54, N4. - С.452-454. 8. Мецишен И.Ф. Глутатион: обмен и функции. Деп. в Укр. НИИ НТИ 29.08.88, N2127-Ук88. - К., 34с. 9. Мецишен И.Ф., Петрова И.В. Окисление и восстановление глутатиона в органах крыс при введении этония // Укр. биохим. ж. - 1983. - Т.55, N5. - С.517-573. 10. Ойвин И.А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований // Пат. физ. и эксп. тер. - 1960. - N4. - С.76-85. 11. Санина О.Л., Бердинских Н.К. Биологическая роль церулоплазмينا и возможности его клинического применения // Вопр. мед. химии. - 1986. - T32, N5. - С.7-14. 12. Софьина З.П. Моделирование в химиотерапии // Итоги науки и техники. Онкология - 1987. - Т.16. - С.64-105. 13. Софьина З.П., Сыркина А.Б., Голдин А., Кляйн А. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США. - М.: Медицина, 1979. - 296с. 14. Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B. Glutathione-S transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. J. Biol. Chem. - 1974. - Vol. 249, N22. - P. 7130-7139. 15. Murray G.I., Weaver R.J., Melvin W.T. Expression of xenobiotic metabolising enzymes in breast cancer // J. Patol. - 1995. - Vol. 169, N3. - P. 347-353.

THE INFLUENCE OF CONIUM MACULATUM L. TINCTURE ON THE STATE OF OXIDANT AND ANTIOXIDANT SYSTEMS OF THE BLOOD OF THE RATS WITH GEREN'S CARCINOMA

O.O. Khavych, I.F. Meshchyshen

Abstract. An injection of the Conium maculatum L. tincture to animals with Geren's carcinoma during 14 days decreases the blood content of compounds with isolated double bounds by 21%, dien conjugates by 19%, ketodiens and conjugated triens by 22%, malondialdehyde - by 17% compared with untreated animals. A positive tendency towards normalization of the activity of the antioxidant enzymes of the glutathione system is shown.

Key words: Conium maculatum L. tincture, blood oxidant system, blood antioxidant system, Geren's carcinoma.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)