

Таблиця 1. Сумарний вміст аденінових компонентів в тимоцитах через 2,5 години після їх рентгенівського опромінення в дозі 4,5 Гр визначений спектрометричними методами (n=10)

Метод визначення	% від контрольних значень
спектрофотометричний	65
Спектрофлуориметричний	74

Встановлене нами (Табл. 1) спектрофотометричним методом зменшення сумарного вмісту аденінових компонентів на 35 % і спектрофлуориметричним методом на 26 %, а в середньому для двох методів – 30 % зниження від контрольних значень сумарного вмісту компонентів аденінової системи через 2,5 години після рентгенівського опромінення суспензії тимоцитів в дозі 4,5 Гр добре узгоджується з наведеними вище даними і раніше одержаними нами експериментальними результатами [2, 5].

Висновки. Спектрофотометричним методом та спектрофлуориметричним визначенням етеноаденіну та його похідних встановлено зниження сумарного вмісту аденінових компонентів на 30 % через 2,5 години після рентгенівського опромінення суспензії тимоцитів в дозі 4,5 Гр.

УДК 577.151.64+616-006

Л. Сорокіна, асп., А. Білюк, студ.,
С. Хижняк, д-р біол. наук

ВПЛИВ НАТРІЙ ДИХЛОРАЦЕТАТУ НА ПЕРЕБІГ ПРООКСИДНО-АНТИОКСИДАНТНИХ ПРОЦЕСІВ В ОРГАНІЗМІ МИШЕЙ З САРКОМОЮ 37

Показано, що натрій дихлорацетат у дозі 86 мг/кг на добу інгібує ріст саркоми 37. Виявлена здатність даного препарату підвищувати інтенсивність вільнорадикальних процесів та знижувати активність супероксиддисмутази і каталази у пухлині, а також впливати на окисно-відновну рівновагу сироватки крові мишей з саркомою 37.

It was shown that sodium dichloroacetate in the dose 86 mg/kg per day inhibits sarcoma 37 growth. The use of DCA leads to the increase of lipid peroxidation intensity and to the decrease of superoxide dismutase and catalase activities in tumor but don't sufficiently influence on these indices in hepatocytes and blood serum of mice with sarcoma 37.

Вступ. Використання мішенних препаратів для лікування пухлинних захворювань вважається одним із найбільш багатообіцяючих підходів у сучасній онкологічній практиці [4]. Перспективним шляхом метаболічного таргетінгу пухлинних клітин є посилення в них ситуації метаболічної катастрофи [6]. Так, на відміну від нормальних клітин, мікрооточення злоякісних клітин характеризується нестачею поживних речовин, енергетичних субстратів та надлишком продуктів розпаду пухлинних клітин. За даних умов вплив на мітохондрії з метою досягнення метаболічної катастрофи може досягатися при використанні натрій дихлорацетату (ДХАН), здатного виступати інгібітором кінази піруватдегідрогенази, активної в пухлинних клітинах [5, 9]. Цей фермент характеризується здатністю фосфорилувати піруватдегідрогеназний комплекс, який трансформуює піруват до ацетил-КоА, та пригнічувати його активність. У зв'язку з цим при дії натрію дихлорацетату забезпечується активація піруватдегідрогеназного комплексу, а отже і посилення процесів енергетичного обміну в мітохондріях. Використання даної сполуки призводить до інгібування процесів аеробного гліколізу в пухлинних клітинах з гіперполяризованою внутрішньою мітохондріальною мембраною та сприяє утворенню в клітинах активних форм оксигену за участі комплексів дихального ланцюга. У зв'язку з цим актуальними є дослідження впливу ДХАН на стан пероксидних процесів та функціональну активність ферментів антиоксидантного захисту в організмі тварин з пухлинами за введення даної таргетної сполуки.

Метою даної роботи було оцінити вплив дихлорацетату натрію на інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у сироватці крові, печінці та пухлинах мишей із саркомою 37.

1. Байсхатов Р., Хансон К.П. Исследование содержания адениловых нуклеотидов в селезенке крыс в норме и после рентгеновского облучения // Радиобиология – 1978. – Т.18, вып. 5. – С.738-739. 2. Дворченко К. О., Матишевська О.П., Майданюк А.В. Дослідження вмісту аденіну нуклеотидів аденозину й аденіну у опромінених тимоцитах щурів // Вісн. Київ. ун-ту ім. Т.Шевченка. Біологія – 2005 – вип. 45-46. – С.52-53. 3. Ермолаева Н.В., Водолазская Н.А. Взаимосвязь между уровнем распада ядерного хроматина и падением содержания АТФ в тимусе крыс после γ-облучения, введения дегранола и гидрокортизона // Радиобиология – 1980 – Т.20, вып. 2. – С.169-172. 4. Радіаційно-індукована структурно-метаболічна модифікація еритроцитів та лімфоїдних клітин / під редакцією Кучеренка М.Є. К. 2006 – 211 с. 5. Майданюк А. Участь аденілових нуклеотидів в індукції апоптозу // Вісн. Київ. ун-ту ім. Т. Шевченка. Біологія – 2008 – вип. 52-53. – С.66-67. 6. Романцев Е.Ф., Блохина З.И., Жуланова и др. Молекулярные механизмы лучевой болезни. – М. Медицина 1983. – 208 с. 7. G. Avigad., S. Damle Fluorimetric assay of adenine and its derivatives // Analytical Biochemistry – 1972. – 50 – p.321 – 323.

Надійшла до редакції 29.10.10

Об'єкт і методи досліджень. Дослідження виконані з використанням мишей-самців віком 2-2,5 міс. масою 18-23 г лінії Balb/c. Тварини були розподілені на 4 групи: 1 – контрольні тварини (n=10), 2 – тварини без пухлин, які отримували ДХАН (n=10), 3 – тварини з перещепленою підшкірно саркомою 37 (С37) у кількості 5×10^6 клітин/тварину (n=10), які отримували внутрішньоочеревинно 0,9 % натрію хлорид замість ДХАН (контроль пухлинного росту); 4 – тварини із саркомою 37, яким вводили препарат ДХАН (n=10). Експериментальні процедури на тваринах проводили з дотриманням вимог Конвенції з біоетики. ДХАН вводили внутрішньоочеревинно у дозі 86 мг/кг на добу протягом 18 днів після появи пухлини. Декапітацію тварин проводили на 20-у добу пухлинного росту, що відповідає стадії пухлинної прогресії. Екстракти пухлин та печінки отримували шляхом центрифугування грубих гомогенатів при +4°C 20 хв при 4000 об/хв. В екстрактах пухлин, печінки та сироватці крові визначали вміст ТБК-активних продуктів (ТБК-АП), активність загальної супероксиддисмутази (СОД), каталази (Кат). Вміст ТБК-АП (малонового діальдегіду) визначали в реакції з тіобарбітуровою кислотою згідно [3]. Активність загальної СОД оцінювали за відсотком інгібування реакції перетворення нітросинього тетразолію до нітроформазану при участі супероксид-аніону, який утворюється в реакції між феназин-метасульфатом і НАДН [7]. Активність каталази оцінювали за кількістю забарвленого комплексу, утвореного в реакції залишкового гідроген пероксиду з амонію молібдатом [2]. В екстрактах тканин визначали також активність глутатіонпероксидази (ГП) за кількістю утвореного окисненого глутатіону [1]. У сироватці крові визначали активність аланінамінотрансферази, аспартатамінотра-

нсфери, гамма-глутамілтранспептидази, лужної фосфатази, вміст білірубину, креатиніну та сечовини з використанням спектрофотометричного аналізатора "StatFax 2100". Статистичну обробку отриманих результатів дослідження проводили з використанням t-критерію Стюдента.

Результати та їх обговорення. Отримані результати свідчать, що за використання ДХАН у сумарній дозі 1548 мг/кг за курс не спостерігається достовірних відмінностей у біохімічних показниках сироватки крові, які характеризують гепатотоксичність (активність аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази, вміст білірубину, активність гамма-глутамілтранспептидази, лужної фосфатази) та нефротоксичність (вміст креатиніну та сечовини), що узгоджується з даними про відсутність токсичних ефектів цієї сполуки [8].

Результати проведених досліджень свідчать, що введення ДХАН у дозі 86 мг/кг на добу впливає на ріст саркоми 37 *in vivo* протягом усього терміну дослідження. Представлена динаміка пухлинного росту свідчить, що за введення ДХАН інгібування росту пухлини на 40 % ($p < 0,05$) відбувається вже на 12-у добу після початку введення препарату (Рис. 1). На 18-у добу введення ДХАН у термін, що відповідає етапу прогресії у розвитку пухлини, має місце суттєве пригнічення росту С37 на 64 % ($p < 0,05$). Отримані результати вказують на наявність протипухлинного ефекту даної сполуки.

При дослідженні впливу ДХАН на стан проокисно-антиоксидантних процесів в пухлинах мишей встановлено (Табл. 1), що препарат сприяє зниженню активності загальної СОД та каталази на 45 % та 35 %, відповідно, та зростанню активності ГП на 49%, можливо впливаючи на захисну систему глутатіону. При цьому інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) зростає, про що свідчить вищий на 65 % рівень вмісту ТБК-АП у пухлинах мишей, яким вводили препарат (група 4), у порівнянні з пухлинами без препарату (група 3). Отримані результати свідчать про посилення деструктивних процесів пероксидного окиснення в пухлинах саркоми 37 за дії ДХАН.

За росту саркоми 37 зростає інтенсивність ПОЛ в гепатоцитах мишей, про що свідчить збільшення на 27 % вмісту ТБК-АП та зниження на 36 % активності СОД у клітинах печінки мишей з пухлинами у порівнянні з інтактними мишами (Табл.1). Введення ДХАН мишам із саркомою 37 не впливає на ці показники (група 4) за винятком СОД, активність якої знижується і становить 30 % у порівнянні з контролем (група 1). Зареєстроване зниження активності СОД під впливом ДХАН, очевидно, обумовлено не дією пероксидних продуктів, оскільки вміст ТБК-АП і активність каталази не змінюються, а іншими факторами. Крім того, введення ДХАН інтактним тваринам (група 2) також не впливає на досліджувані показники окисного метаболізму в клітинах печінки мишей з пухлинами у порівнянні з інтактними тваринами (Табл. 1).

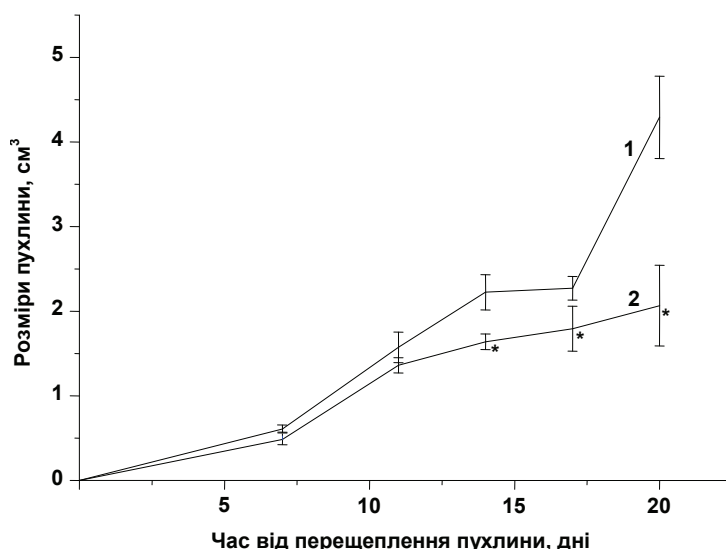


Рис. 1. Динаміка росту саркоми 37 у мишей: у групі контролю пухлинного росту (1), а також за використання натрію дихлорацетату (2).

* – $p < 0,05$ у порівнянні з групою контролю пухлинного росту.

Таблиця 1. Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у пухлинах, печінці та сироватці крові мишей (n=40)

Об'єкт дослідження	Вміст ТБК-АП, нмоль/мг	Активність загальної СОД, у.о./мг білка хв	Активність Кат, у.о./мг білка хв	Активність ГП, мкмоль ГSSG/мг білка хв
С37	3,54±0,12	0,18±0,03	74,7±10,2	102,9±21,1
С37+ДХАН	5,87±0,68**	0,10±0,02**	26,3±5,3**	153,0±20,3**
Печінка Контроль	8,77±0,77	1,34±0,12	128,3±11,5	262,5±25,3
Печінка +ДХАН	7,23±0,73	1,32±0,13	132,7±13,1	280,1±27,6
Печінка + С37	11,08±1,01*	0,87±0,07*	145,8±13,4	235,6±24,2
Печінка+ С37+ДХАН	11,65±1,12*	0,40±0,03*,**	138,4±14,1	245,8±25,1
СК Контроль	2,2±0,21	0,63±0,05	239,1±22,1	НВ
СК + С37	7,9±0,68*	1,32±0,14*	225,6±23,5	НВ
СК + С37+ДХАН	4,5±0,34*,**	0,48±0,05*,**	361,3±35,4*,**	НВ

Примітка: ДХАН – натрій дихлорацетат, С37- тварини з перещепленою підшкірно саркомою 37, СК-сироватка крові, НВ – не вимірювали.

* – відмінності достовірні у порівнянні з групою контрольних тварин ($p < 0,05$), ** – відмінності достовірні у порівнянні з групою мишей із С37 ($p < 0,05$).

Про зростання інтенсивності ПОЛ у умовах пухлинного процесу свідчить збільшення у 3,6 рази вмісту ТБК-АП у сироватці крові тварин із саркомою 37 у порівнянні з контролем (Табл. 1). Введення ДХАН мишам із саркомою 37 (група 4) впливає на показники окисного метаболізму сироватки крові у порівнянні з групою мишей в контролі (група 1) та із саркомою 37 (група 3). Вміст ТБК-АП знижується на 73 %, активність загальної СОД – на 64 %, а активність каталази зростає на 61 % (порівняно з групою 3). Введення ДХАН мишам із саркомою 37 впливає на ці показники в сироватці крові, наближаючи їх до рівня величин контрольної групи. Причому, активність каталази сироватки крові мишей з пухлинами за умов введення ДХАН навіть зростає на 51 % у порівнянні із сироваткою контрольних мишей.

Таким чином, виявлено вплив натрій дихлорацетату на проокисно-антиоксидантну рівновагу в організмі мишей з саркомою 37 та інтенсифікацію окисних процесів в пухлинах за дії ДХАН, що може бути складовою механізмом протипухлинного ефекту даного препарату та свідчить про можливість цілеспрямованої його дії на пухлину.

Висновок. Натрій дихлорацетат у дозі 1548 мг/кг за курс здатний інгібувати ріст саркоми 37 на 64 %. Введення препарату призводить до інтенсифікації окисних

процесів у саркомі 37, що супроводжується накопиченням ТБК-активних продуктів у пухлинах, зниженням активності загальної супероксиддисмутази та каталази. Натрій дихлорацетат сприяє наближенню показників, що характеризують інтенсивність ПОЛ, у сироватці крові мишей з саркомою 37 до значень, які спостерігаються в контролі, тоді як на стан цих процесів у печінці препарат суттєво не впливає. Встановлено переважачий вплив натрій дихлорацетату на характер проокисно-антиоксидантних процесів у пухлині, що може виступати складовою механізмом, покладеного в основу здатності даної сполуки інгібувати ріст пухлини.

1. Власова С.Н., Шабунина Е.И., Переслегина И.А. // Лаб. дело. – 1990. – №8. – С. 19-22. 2. Корольок М.А., Иванова Л.И., Монтарева В.Е. и др. // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19. 3. Современные методы в биохимии / Под. ред. В.Н.Ореховича. – М., 1977. 4. Cairns R.A., Papandreou I., Sutphin P.D. et al. // PNAS. – 2007. – Vol. 104, № 22. – P. 9445-9450. 5. McMurtry M.S., Bonnet S., Wu X. et al. // Circulation Res. – 2004. – V. 15. – P. 830-840. 6. Michelakis E.D. // Circulation. – 2008. – V. 13. – P. 2431-2434. 7. Nishikimi M., Roa N.A., Yogi K. // J. Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1972. – V.46. – P. 849-854. 8. Stacpoole P., Handerson G., Yan Z. // Env Health Perspectives. – 1998. – Vol. 106, № 4. – P. 989-994. 9. Whitehouse S., Randle P. J. // Biochem. J.-1973. – V. 134. – P. 651-653.

Надійшла до редколегії 16.12.10

УДК 579.616.3:633.8

Т. Фурзікова, канд. біол. наук, І. Сорокулова, д-р біол. наук,
В. Лутченко, канд. біол. наук, А. Путніков, пров. інж.

РОСТОВА АКТИВНІСТЬ СКЛАДОВИХ БІОСПОРИНУ ПРИ ВИКОРИСТАННІ ВІДВАРІВ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН

В досліджах in vitro показано вплив відварів лікарських рослин на ріст та розвиток штамів Bacillus subtilis УКМ В-5007 та Bacillus licheniformis УКМ В-5514 які є складовими біоспорину. Продемонстровано, що жоден з фітотидварів не пригнічував росту пробіотичних штамів. При вирощуванні Bacillus subtilis УКМ В-5007 та Bacillus licheniformis УКМ В-5514 на рідкому середовищі Гаузе, виготовленому на основі відварів полину та м'яти тривалість lag-фази скорочувалась з 4-6 годин в контролі до 2 годин в досліді. Всі відвари лікарських рослин здійснювали стимулюючий вплив на приріст біомаси штамів бацил більш ніж на три порядки. Найбільш перспективними для подальших досліджень виявились відвари деревію, полину, ромашки та м'яти.

In in vitro experiments it has been researched the effect of herbal decoction of medicinal plants on growth and development of strains of Bacillus subtilis UKM B-5007 and Bacillus licheniformis UKM B-5514 that is a component of biosporin. It has been shown that herbal decoction does not suppress the growth of probiotic strains. When Bacillus subtilis UKM B-5007 and Bacillus licheniformis UKM B-5514 has been grown in medium Gause 2, prepared on the basis of herbal decoction of wormwood and mint, the duration of lag-phase decreased from 4-6 hours for control to 2 hours in the experiment. All herbal decoctions of medicinal plants carried out a stimulating effect on biomass growth of strains of bacilli for more than three orders of magnitude. Concoctions yarrow, wormwood, chamomile and peppermint have turned out to be most promising for further investigations.

Вступ. Відомо, що будь-який патологічний процес (як інфекційної так і не інфекційної етіології) призводить до порушень гомеостазу всього організму [2, 3]. Невід'ємною складовою гомеостатичного існування організму людини є стан його мікробіоти. Мікроекологічні порушення це серйозні розлади в еволюційно сформованій системі макроорганізм-мікробіота. Дисбіози є одним з наслідків чисельних патологічних процесів в різних органах та системах організму, а також причиною їх ускладнення та хронізації.

Препарати, що містять живі культури мікроорганізмів – пробіотики – все частіше використовують у схемах терапії різних патологічних процесів, так як вони сприяють відновленню мікробіотичних порушень і гомеостазу вцілому [1, 8].

У терапії інфекційних захворювань перспективи набувають пробіотики, що містять активні штами-антагоністи патогенної мікрофлори [7]. Зокрема біоспорин досить добре зарекомендував себе у терапії інфекцій, що зумовлені сальмонелами, шигелами, стафілококами, кандидами та ін. [1].

В останнє десятиріччя суттєво переглянуто принципи та підходи до етіотропної терапії гострих кишкових інфекцій, що відобразилось в значному обмеженні показань до призначення антибіотиків. Сформувався точка зору, що перебіг легких та середньої тяжкості захворювань є більш сприятливим без використання антибіотиків [9]. Так, показано, що при гострих кишкових інфекціях та, більшою мірою в період репарації та легких формах захворювання ефективним є використання фітотерапії [4]. Найчастіше лікарські рослини призначають у вигляді відварів або настоянок висушеної сировини.

На наш погляд, перспективним є дослідити можливість сумісного використання пробіотиків з бацил та відварів лікарських рослин, що традиційно використовують при шлунково-кишкових інфекціях. Метою даної роботи було оцінити вплив відварів лікарських рослин на ростові показники штамів *Bacillus subtilis* УКМ В-5007 та *Bacillus licheniformis* УКМ В-5514 – складових біоспорину.

Об'єкт та методи досліджень. Об'єктом дослідження були штами бацил *Bacillus subtilis* УКМ В-5007 та *Bacillus licheniformis* УКМ В-5514, що входять до складу пробіотика біоспорину.

© Фурзікова Т., Сорокулова І., Лутченко В., Путніков А., 2011