

9. Prothrombin activation fragment 1+2 as a marker of coagulation activation in cord blood collection for banking / S. Juutistenaho, E. Vahtera, K. Aranko et al. // *Transfus. Med.* – 2010. – 20 (4). – P. 250–257.

10. Lasne D. From normal to pathological hemostasis / D. Lasne, B. Jude, S. Susen // *Can J. Anaesth.* – 2006. – 53 (6 Suppl). – P. 2–11.

11. Selected methods for antibody and nucleic acid probes. Cold Spring Harbor Laboratory Press. – N. Y., 1993. – 680 p.

12. Stassen J. M., Arnout J., Deckmyn H. The hemostatic system / J. M. Stassen, J. Arnout, H. Deckmyn // *Curr. Med. Chem.* – 2004. – 11(17). – P. 2245–2260.

Надійшла до редколегії 08.10.14

Н. Ракша, канд. біол. наук, М. Бурлова-Васильєва, асп., Е. Торгалло, канд. біол. наук, О. Савчук, д-р біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ

ПОЯВА В КРОВІ МОЛЕКУЛ ПРОТРОМБІНОВОГО ПОХОДЖЕННЯ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ АТЕРОТРОМБОТИЧНОГО ТА КАРДІОЕМБОЛІЧНОГО ІШЕМІЧНОГО ІНСУЛЬТУ

Показано зростання вмісту молекул протромбінового походження у пацієнтів з атеротромботичним та кардіоемболічним підтипами інсульту. Виявлено присутність у плазмі хворих білкових фракцій у діапазоні молекулярних мас, що відповідають молекулам протромбіну та продуктам його активації.

Ключові слова: протромбіновий час, молекули протромбінового походження, атеротромботичний та кардіоемболічний підтипи інсульту.

Н. Ракша, канд. биол. наук, М. Бурлова-Васильева, асп., Е. Торгалло, канд. биол. наук, А. Савчук, д-р биол. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

ПОЯВЛЕНИЕ В КРОВИ МОЛЕКУЛ ПРОТРОМБИНОВОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ПРИ РАЗВИТИИ АТЕРОТРОМБОТИЧЕСКОГО И КАРДИОЭМБОЛИЧЕСКОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Показано увеличение содержания молекул протромбинового происхождения у пациентов с атеротромботическим и кардиоэмболическим подтипами инсульта. Обнаружено присутствие в плазме больных белковых фракций в диапазоне молекулярных масс, которые соответствуют молекулам протромбина и продуктам его активации.

Ключевые слова: протромбиновое время, молекулы протромбинового происхождения, атеротромботический и кардиоэмболический подтипы инсульта.

УДК 616. 342-002. 44(043. 3)

А. Маркевич, асп., Л. Богун, канд. біол. наук, О. Харченко, канд. біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ,
К. Кудрявцев, канд. хім. наук
Московський державний університет ім. М. В. Ломоносова, Москва, РФ

ВПЛИВ НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНОЇ ОРГАНІЧНОЇ СПОЛУКИ 2-(2-ГІДРОКСИФЕНОКСИ)АЦЕТИЛ)-L-ПРОЛІНАТ НАТРІЮ НА СТИМУЛЬОВАНУ КАРБАХОЛІНОМ ШЛУНКОВУ СЕКРЕЦІЮ У ЩУРІВ

Показано ефекти низькомолекулярної органічної сполуки (НМОС) на шлункову секрецію гідрохлоридної кислоти і пепсину та на активність H^+ , K^+ -АТФази, за умов стимуляції карбахоліном. На 20 білих лабораторних щурах досліджували стимульовану карбахоліном секрецію гідрохлоридної кислоти методом перфузії ізольованого шлунка, дебіт пепсину колориметричним методом за Тіном упродовж 120 хвилин та активність H^+ , K^+ -АТФази оцінювали спектрофотометрично за рівнем неорганічного фосфату. Введення НМОС призводило до зменшення стимульованого карбахоліном дебіту гідрохлоридної кислоти та пепсину, а також до зниження активності H^+ , K^+ -АТФази. Досліджуючи НМОС, було виявлено її антисекреторну властивість, яка є одним з механізмів антивиразкової дії.

Ключові слова: низькомолекулярна органічна сполука, стимульована секреція, гідрохлоридна кислота, пепсин, H^+ , K^+ -АТФаза.

Вступ. Кислотозалежними прийнято вважати захворювання, у виникненні яких значну роль грають патологічні ефекти гідрохлоридної кислоти шлункового соку. У сучасній клініці найбільш часто зустрічаються такі захворювання, як гастроєзофагеальна рефлюксна хвороба (ГЕРХ), ерозивно-виразкові ураження гастродуоденальної зони, гастропатії, пов'язані з вживанням нестероїдних протизапальних препаратів, гострі стресові виразки, етанолові виразки, функціональна диспепсія. В їх лікуванні використовуються засоби, що пригнічують виділення гідрохлоридної кислоти [1].

При лікуванні гіперсекреції гідрохлоридної кислоти використовують антацидні або антисекреторні препарати. Найефективнішими антисекреторними препаратами вважають інгібітори протонної помпи (ІПП), які дозволяють на довгий час пригнічувати продукцію гідрохлоридної кислоти. Проте ІПП мають ряд побічних ефектів, а також ряд пацієнтів є не чутливими до блокаторів H^+ , K^+ -АТФази [1].

ІПП можуть призвести до зниження в крові рівня антивірусних та протипухлинних ліків, абсорбція яких у кров є кислотозалежною. Зниження шлункової кислоти спричинює порушення всмоктування вітаміну В12, кальція, заліза та магнія [2]. У людей, які приймають

ІПП спостерігаються рецидиви інфекції *Clostridium difficile*, переломи, обумовлені остеопорозом, інтерстиціальний нефрит і рецидиви пневмонії [3, 4]. Ще одним негативним ефектом ІПП є компенсаторна реакція організму і посилення секреції гідрохлоридної кислоти після припинення прийому цих ліків [4]. Довготривале використання ІПП може також призвести до летальних випадків, особливо у людей похилого віку, які страждають на численні хронічні захворювання [5]. Є дані, що свідчать про ймовірність рецидиву інфаркту при одночасному лікуванні клопидогрелем і ІПП [6].

Наведені дані свідчать про необхідність пошуку нових ліків в лікуванні кислотозалежних захворювань, щоб звести побічні ефекти наявних препаратів до мінімуму.

В попередніх роботах нами була встановлена антивиразкова дія низькомолекулярної органічної сполуки (НМОС) (2-(2-гідроксифенокси)ацетил)-L-пролінат натрію [7, 8, 9], але механізми її дії не відомі. Оскільки посилення кислото-пептичного фактору є однією з ланок виразкового процесу, метою роботи було дослідити вплив НМОС (2-(2-гідроксифенокси)ацетил)-L-пролінат натрію на стимульовану карбахоліном секрецію гідрохлоридної кислоти, дебіт пепсину та H^+ , K^+ -АТФазу активність.

© Маркевич А., Богун Л., Харченко О., Кудрявцев К., 2014

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проводилося на білих нелінійних лабораторних щурах розведення віварію Навчально-наукового центру "Інституту біології" Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Тварини утримувалися на стандартному раціоні в умовах акредитованого віварію згідно "Стандартним правилам з упорядкування, обладнання та утримання експериментальних біологічних клінік (віваріїв)". Всі роботи з тваринами проводилися з дотриманням нормативів Конвенції з біоетики Ради Європи 1997 року, Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей, відповідно до Закону України від 21.02.2006 № 3447-IV "Про захист тварин від жорстокого поводження" [10] та у відповідності з етичними нормами і правилами роботи з лабораторними тваринами [11]. Прилади, що використовувалися для наукових досліджень, підлягали метрологічному контролю.

Дослідження було проведене на 20 щурах, які поділені на 2 групи:

1 група тварин – контроль. Щурам за 30 хвилин до спостереження стимульованої секреції кислоти внутрішньоочеревинно (в/о) вводили 0,4 мл фізіологічного розчину на 200 г ваги щура – самця (10 тварин);

2 – дослідна група. Щурам за 30 хвилин до спостереження стимульованої секреції кислоти в/о вводили НМОС (2-(2-гідроксифенокси)ацетил)-L-пролінат натрію в дозі 1 мг/кг, в об'ємі 0,4 мл на 200 г щура – самця щурів (10 тварин). Досліджувана сполука була синтезована Хімічним факультетом Московського державного університету імені М.В. Ломоносова.

Дослідження стимульованої шлункової секреції кислоти у щурів проводили методом перфузії ізольованого шлунка за Гхошем та Шільдом (1958) упродовж 120 хв [12]. Схема експерименту була наступною: 1) щурів наркотизували уретаном в дозі 1,15 г/кг ваги (внутрішньоочеревинно); 2) 30 хв досліджували базальну секрецію, після чого вводили НМОС в дозі 1 мг/кг; 3) через 30 хв після введення НМОС вводили карбахолін у дозі 0,001 мг/кг (SigmaChemicalCo, St. Louis, USA) та вимірювали дебіт кислоти, яка виділилася впродовж 120 хвилин стимульованої секреції. У зібраних 10-хвилинних пробах електротитриметрично визначали вміст гідрохлоридної кислоти за допомогою іономіра EB-74 з використанням 0,01 N розчину гідроокису натрію (NaOH) та концентрацію пепсину колориметричним методом за Тіном (1986) [13]. Кількість NaOH, що йшла на титрування перфузату в 10-ти хвилинній пробі, дорівнювала дебіту гідрохлоридної кислоти, виділеної шлу-

нком за даний період часу. В зібраних пробах обчислювали дебіт пепсину шлункового соку, що виділювався за 120 хв стимульованої секреції.

При дослідженні активності H^+, K^+ -АТФази щурам міряли 30 хв базальний рівень активності H^+, K^+ -АТФази; після цього контрольній групі вводили фізіологічний розчин, а дослідній групі – НМОС, і ще через 30 хв вводили карбахолін в обидві групи. Через 120 хв після введення стимулятора у щурів здійснювали забір слизової оболонки шлунка (СОШ). Парієтальні клітини виділялись за описаною методикою (ферментативне відщеплення загальної фракції клітин слизової оболонки шлунка з наступним ультрацентрифугуванням на сахарозо-фікольному градієнті) [14]. Фракцію плазматичних мембран отримували на градієнті сахарози (30%) за рекомендаціями [15]. Активність H^+, K^+ -АТФази оцінювали спектрофотометрично за рівнем неорганічного фосфату, який утворюється в результаті проходження ферментативної реакції [16].

Всі кількісні та якісні показники, зареєстровані в журналі досліджень, підлягали статистичній обробці за допомогою пакету програм Statistica 8.0. Отримані результати досліджень перевіряли на нормальність розподілу за допомогою W тесту Шапіро-Вілка. Оскільки дані були параметричні, то для їх порівняння використовували t-критерій Стюдента для незалежних вибірок, рівень значущості становив $p < 0,05$. Дані представляли у вигляді середнього значення (M) і помилки середнього (m).

Результати та їх обговорення. Встановлено, що дебіт гідрохлоридної кислоти за умов в/о введення карбахоліну у дозі 0,001 мг/кг в контрольній групі щурів становив $152,1 \pm 13,5$ мкмоль/120 хв (рис.1). В результаті дії стимулятора секреція гідрохлоридної кислоти в шлунку щурів зросла на $468,9 \pm 40,4\%$ ($p < 0,001$) порівняно з базальним рівнем секреції $33,1 \pm 2,0$ мкмоль/120 хв (рис.2).

Дебіт гідрохлоридної кислоти в групі щурів, яким вводили НМОС, за умов карбахолінової стимуляції становив $111,7 \pm 13,0$ мкмоль/120 хв. Отриманий показник був на 26,6% ($p < 0,05$) нижчим за рівень контролю, що свідчить про антисекреторний вплив НМОС (рис.1). Карбахолін збільшував секрецію гідрохлоридної кислоти в дослідній групі щурів на $325,2 \pm 28,5\%$ ($p < 0,001$) порівняно з базальною секрецією (рис.2). Отже, стимулюючий ефект карбахоліну на секрецію під впливом досліджуваної сполуки був меншим на 30,6% ($p < 0,01$) порівняно з контрольною групою (рис.2).

Таким чином, досліджувана субстанція ефективно зменшує стимульовану холіноміметиком секрецію гідрохлоридної кислоти.

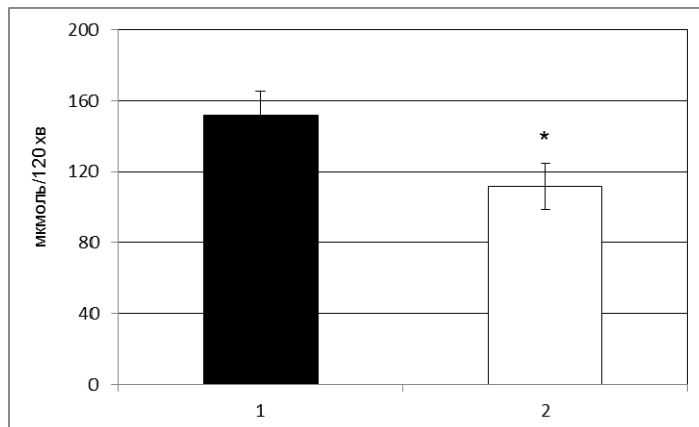


Рис. 1. Дебіт гідрохлоридної кислоти в шлунку щурів за умов введення карбахоліну (0,001 мг/кг, в/о) та низькомолекулярної органічної сполуки (2-(2-гідроксифенокси)ацетил)-L-пролінат натрію (1мг/кг, в/о) ($M \pm m$, $n = 10$ у кожній групі)

1 – контроль, 2 – дослідна група

Примітка: * – $p < 0,05$ у порівнянні з контролем

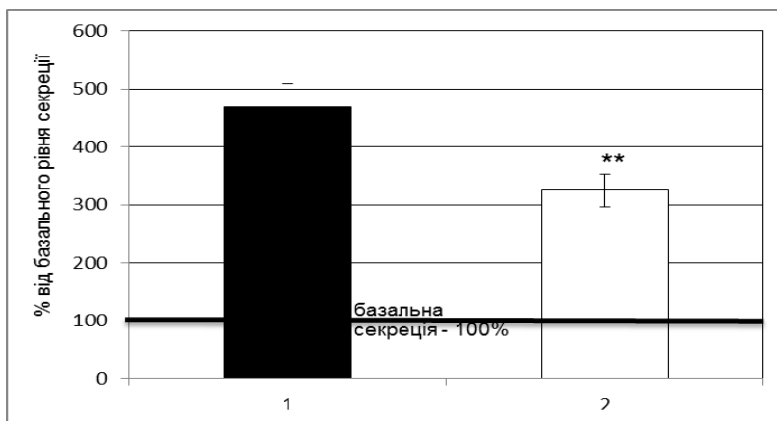


Рис. 2. Функціональна відповідь парієтальних клітин на стимульовану карбахоліном (0,001 мг/кг, в/о) секрецію гідрохлоридної кислоти в шлунку щурів у відсотках від рівня базальної секреції за умов введення низькомолекулярної органічної сполуки (2-(2-гідроксифенокси)ацетил)-L-пролінат натрію (1мг/кг, в/о) ($M \pm m$, $n = 10$ у кожній групі)
1 – контроль, 2 – дослідна група

Примітка: ** – $p < 0,05$ у порівнянні з контролем.

В механізмах виділення H^+ парієтальними клітинами, а отже, синтезу гідрохлоридної кислоти, ключову роль відіграє H^+, K^+ -АТФаза, фермент, локалізований на апікальній поверхні обкладкових клітин [16]. Тому наступним етапом було дослідження активності даного фермента за умов введення НМОС та карбахоліна. В результаті біохімічного аналізу мембран парієтальних клітин СОШ було встановлено, що базальний рівень

активності H^+, K^+ -АТФази досягав значення $10,6 \pm 0,9$ нмоль Фн/(хв×мг білка). Після введення карбахоліну активність збільшилась і становила $48,5 \pm 5,5$ нмоль Фн/(хв×мг білка). Введення досліджуваної сполуки за 30 хв до стимулятора суттєво пригнічувало активність протонної помпи, яка за даних умов складала $24,5 \pm 3,7$ нмоль Фн/(хв×мг білка), що на 49,5% ($p < 0,01$) менше порівняно з контролем (рис. 3).

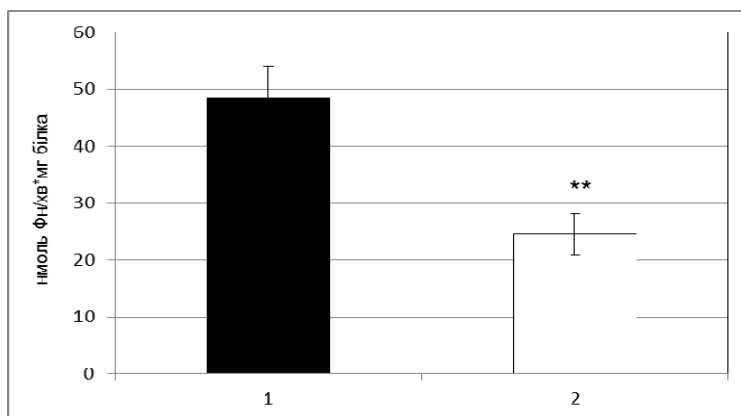


Рис. 3. Активність H^+, K^+ -АТФази в шлунку щурів за умов введення низькомолекулярної органічної сполуки (2-(2-гідроксифенокси)ацетил)-L-пролінат натрію (1 мг/кг, в/о) та карбахоліну (0,001 мг/кг, в/о) ($M \pm m$, $n = 10$ у кожній групі)
1 – контроль, 2 – дослідна група

** – $p \leq 0,01$ у порівнянні з контролем

Отже, одним з механізмів антисекреторної дії є інгібування H^+, K^+ -АТФази. Отримані результати можуть свідчити про наявність функціональних груп в досліджуваній сполуці, які здатні сполучатися з протонної помпою та пригнічувати її активність.

Пепсин є фактором агресії шлунку, його активує гідрохлоридна кислота, чим посилюється ураження і виникає пептична виразка [17]. Тому, далі нами досліджувалась дія НМОС на дебіт пепсину.

Дебіт пепсину в групі щурів, яким вводили фізіологічний розчин, за умов введення карбахоліну становив

4091 ± 1330 мкг/120 хв. Таким чином, карбахолін посилює секрецію пепсину на 46% ($p < 0,001$) порівняно з базальним рівнем 2801 ± 560 мкг/120 хв. Введення НМОС в дослідній групі щурів дебіт пепсину становив 2300 ± 677 мкг/120 хв, що на 56% ($p < 0,05$) менше порівняно з тваринами, яким вводили фізіологічний розчин (рис. 4). Отже, досліджувана сполука зменшувала дебіт пепсину за умов стимуляції карбахоліном до рівня базальної секреції.

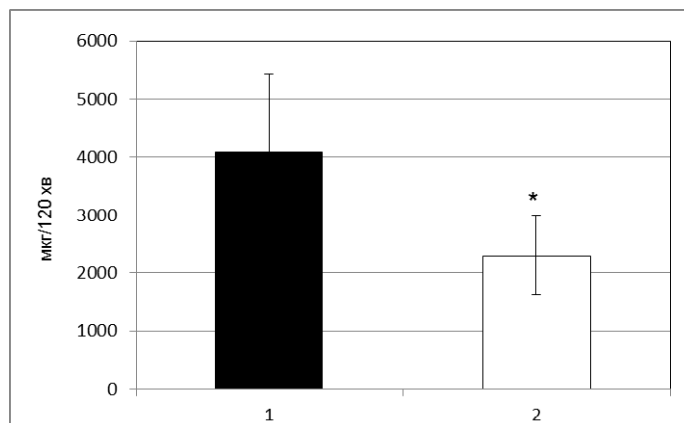


Рис. 4. Дебіт пепсину в шлунку щурів за умов стимуляції карбахоліном (0,001 мг/кг, в/о) та введення низькомолекулярної органічної сполуки (2-(2-гідроксифенокс)ацетил)-L-пролінат натрію (1мг/кг, в/о) ($M \pm m$, $n = 10$ у кожній групі)
1 – контроль, 2 – дослідна група

Примітка: * – $p < 0,05$ у порівнянні з контролем

Висновок. Отримані результати свідчать, що досліджувана сполука ефективно зменшує стимульовану карбахоліном секрецію гідрохлоридної кислоти та дебіт пепсину. Механізмом антисекреторного впливу НМОС є пригнічення активності H^+ , K^+ -АТФази. Встановлений вплив на кислото-пептичний фактор виразкоутворення є одним з механізмів профілактичного впливу НМОС на ерозивно-виразкові ураження в СОШ.

Список використаних джерел

- Shi S. Proton pump inhibitors: an update of their clinical use and pharmacokinetics / S. Shi, U. Klotz // Eur J Clin Pharmacol. – 2008. – № 64. – P. 935–951.
- Proton pump inhibitors suppress absorption of dietary non-haem iron in hereditary haemochromatosis / C. Hutchinson [et. al] // Gut. – 2007. – № 56 (9). – P. 1291–1295.
- Proton pump inhibitors and risk for recurrent Clostridium difficile infection / A. Linsky [et. al] // Arch Intern Med. – 2010. – № 170 (9). – P. 772–778.
- Long-term proton pump inhibitor therapy and risk of hip fracture / Y. Yang [et. al] // JAMA. – 2006. – № 296 (24). – P. 2947–2953.
- Use of proton pump inhibitors and mortality among institutionalized older people / J. Bell [et.al] // Arch Intern Med. – 2010. – № 170 (17). – P. 1604–1605.
- A population-based study of the drug interaction between proton pump inhibitors and clopidogrel / D. Juurlink [et.al] // CMAJ. – 2009. – № 180 (7). – P. 713–718.
- Использование новых низкомолекулярных органических соединений в профилактике вызванных аспирином эрозивно-язвенных поражений у крыс / К.В. Кудрявцев [и др.] // Проблемы екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. – 2012. – № 5 (113). – С. 458–465.
- Скринінг синтезованих низькомолекулярних органічних сполук щодо їх ефективності в лікуванні виразок на лабораторних тваринах / О.П. Гаділія [та ін.] // Світ медицини та біології. – 2013. – № 3 (39). – С. 16–20.
- Скринінг синтезованих низькомолекулярних органічних сполук щодо їх ефективності в профілактиці уражень слизової оболонки шлунка / А.О. Маркевич [та ін.] // Вісн. проблем біології та медицини. – 2013. – № 3, т. 1 (102). – С. 116–121.
- ЗУ от 21.02. 06 № 3447-IV "Про захисту животних от жестокого обращения": 2006.
- Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. – Washington DC : National Academy Press, 1996.
- Ghosh M. N. Continuous recording of acid gastric secretion in the rat. / M. N.Ghosh, H. O. Schild // Br J Pharmacol Chemother. – 1958. – Vol. 13, № 1. – P. 54–61.
- Тин В. П. Метод определения пепсина в желудочном соке с использованием колориметрии / В. П. Тин // Лаб. дело. – 1986. – № 11. – С. 656–657.
- Клеточная локализация аденилатциклаза, стимулируемая гистамином / М. М. Таиров [и др.] // Биохимия. – 1983. – Т. 48, № 6. – С. 1035–1041.
- Рыбальченко В. К. Структура и функции мембран / В. К. Рыбальченко, Н. М. Коганов // Практикум. – К., 1988. – С. 216–221.
- Functional Expression of Gastric H,K-ATPase and Site-directed Mutagenesis of the Putative Cation Binding Site and the Catalytic Center / S.Asano [et. al] // J. B. C. – 1996. – Vol. 271, № 5. – P. 2740–2745.
- Kageyama T. Pepsinogens, progastricsins, and prochymosins: structure, function, evolution, and development / T. Kageyama // Cell Mol Life Sci. – 2002. – Vol. 59, № 2. – P. 288–306.

Надійшла до редколегії 31.10.14

А Маркевич, асп., Л. Богун, канд. биол. наук, О. Харченко, канд. биол. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина
К. Кудрявцев, канд. хим. наук
Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, РФ

ВЛИЯНИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ОРГАНИЧЕСКОГО СОЕДИНЕНИЯ 2-(2-ГИДРОКСИФЕНОКСИ)АЦЕТИЛ)-L-ПРОЛИНАТ НАТРИЯ НА СТИМУЛИРОВАННУЮ КАРБАХОЛИНОМ ЖЕЛУДОЧНУЮ СЕКРЕЦИЮ У КРЫС

Показано эффекты низкомолекулярного органического соединения (НМОС) на желудочную секрецию гидрохлоридной кислоты и пепсина, а также на активность H^+ , K^+ -АТФазы, в условиях стимуляции карбахоліном. На 20 белых лабораторных крысах исследовали стимулированную карбахоліном секрецию гидрохлоридной кислоты методом перфузии изолированного желудка, дебит пепсина колориметрическим методом за Тином в течении 120 минут и активность H^+ , K^+ -АТФазы оценивали спектрофотометрически по уровню неорганического фосфата. Введение НМОС приводило к уменьшению стимулированного карбахоліном дебита гидрохлоридной кислоты и пепсина, а также к снижению активности H^+ , K^+ -АТФазы. Исследуя НМОС было обнаружено его антисекреторное свойство, которое является одним из механизмов антиязвенного действия.

Ключевые слова: низкомолекулярное органическое соединение, стимулированная секреция, гидрохлоридная кислота, пепсин, H^+ , K^+ -АТФаза.

A. Markevych, PhD student., L. Bogun, PhD., O. Harchenko, PhD
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,
K. Kudryavtsev, PhD
Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

EFFECT OF LOW MOLECULAR WEIGHT ORGANIC COMPOUND SODIUM 2-(2-HYDROXYPHENOXY)ACETYL)-L-PROLINATE ON RAT GASTRIC SECRETION STIMULATED BY CARBACHOL

To investigate the effects of low molecular organic compound (LMOC) on gastric acid secretion (GAS), pepsin output and the activity of H^+,K^+ -ATPase in the conditions of carbachol stimulation. GAS stimulated by carbachol was measured by method of isolated perfused stomach, pepsin output was analyzed by colorimetric method for 120 minutes and the activity of H^+,K^+ -ATPase was assessed spectrophotometrically by the level of anorganic phosphate on 20 white laboratory rats. GAS, pepsin output and the H^+,K^+ -ATPase activity were decreased under the carbachol stimulation after injection of LMOC. LMOC decreases the gastric acid and pepsin secretion in terms of carbachol stimulation. The inhibition of H^+,K^+ -ATPase activity is considered as mechanism of antisecretory property of LMOC.

Keywords: low molecular weight organic compound, stimulated secretion, hydrochloride acid, pepsin, H^+,K^+ -ATPase.

UDK 577.15

Ya. Raetska, PhD, O. Morgaienko, PhD, T. Ischuk, PhD student, L. Ostapchenko, Doctor of sciences
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

AMINOTRANSFERASE ACTIVITY IN RAT BLOOD SERUM UNDER MALIGNANT GUERIN'S CARCINOMA GROWTH UPON TREATMENT WITH ANTIOXIDANT DRUG "GRIN"

The malignant growth of Guerin's carcinoma was shown to induce increase of aminotransferases' enzymatic activities. It was established that introduction of the antioxidant substance "GRIN" led to normalization of aminotransferases' activities in blood serum and also had essential inhibitory effect on the tumor growth.

Key words: Guerin's carcinoma, aminotransferases, an antioxidant.

Introduction. Annually there are nearly 6 million new registered cases of malignant disease all over the world. Meanwhile uterine cancer (adenocarcinoma) is a widespread disease among women ranking 4th place after breast, skin, and gastrointestinal cancers.

The rate of uterine cancer incidence increases steadily. In Ukraine, this value is 26.4 per 100,000 population. Women are starting to get sick at the age of 40-54 years old, the peak of the disease occurs at the age of 60-64 years [1,2]. At the present time Guerin's carcinoma (GC) is known to be an optimal model of this pathology for research. GC is a strain of modified cancer derived from the rat spontaneous adenocarcinoma.

Nowadays natural substances are proved by experimental and clinical studies to be promising in combination therapy of cancer. Drugs increasing antitumor resistance, preventing metastasis development and cancer recurrence, attenuating chemotherapy toxicity are of particular interest. So use of drugs that have ability to normalize physiological antioxidant system and increase resistance to malignization is important for oncology [3, 4].

Biochemical parameters of animal and human organisms are known to change under tumor growth [5]. So the aim of the research was to reproduce experimental model of adenocarcinoma and to determine activities of aspartate aminotransferase (AST, EC 2.6.1.1) and alanine aminotransferase (ALT, EC 2.6.1.2) in rat blood serum under tumor growth in condition of studied substance "GRIN" administration.

Blood serum activities of hepatic enzymes AST and ALT are known to be informative characteristics of pathological process because the liver plays a major role in metabolism and is involved into dysfunction of an organism under tumor growth. Herewith AST and ALT values indicate the effect of test substances under malignization [6,7].

Materials and methods. The experiments were conducted on 130 female white rats with weight 180 ± 20 g, which were kept on the standard vivarium diet. GC obtained from donor rats was inoculated to the animals by subcutaneous injection (20% suspension of tumor cells in 0.9% NaCl) in rat hindlimb [8].

Some animals had been treated daily with the studied substance at various doses for 23 days after tumor transplantation. The animals from control group were administered with 1 ml of 0.9% NaCl. At the 7th day after inoculation tumor volume had been measured for period till 25th day. The animals were decapitated under light ether anaesthesia on the 23rd day after tumor transplantation.

To obtain rat blood serum peripheral blood was kept in thermostat for 40 min at 28°C and then underwent centrifugation at 2500g for 30 min [9].

Enzymatic activities were measured using the biochemical analyzer "Humalyser 3000" with kits for colorimetric determination of AST and ALT activities and were expressed as equivalent units per liter (EU/L) [10].

Statistical analysis was performed using software for statistical analysis in Microsoft Excel. Unpaired Student's t test was used to compare values of different groups, and P values < 0.05 were considered to be significant [4].

Results and discussion. Treatment with drugs normalizing physiological antioxidant system and increasing resistance to malignization is important in medicine and represents one of the directions of complex oncology research [11, 12]. The substance "GRIN" designed by "World grinization system" company (Ukraine) is a powder form of the purified protein fractions from the Far-Eastern Holothurian and the worm culture made by special multistage, non-enzymatic, low temperature technology, that allows to avoid denaturation of proteins, to increase their bioavailability, and to retain their globular state with preservation of nuclear DNA's regulatory peptides and their functional properties.

The first step of investigation was determining effect of the substance "GRIN" on tumor growth in rats with inoculated CG. The following results were obtained (Figure 1).

We found out that studied substance stabilized growth of GC. Such effect was observed predominantly at 18th and 23rd days after tumor inoculation in compare to GC control. Average tumor volume was increased steadily reaching the peak meaning at the 23rd day. Administration with "GRIN" in dose 200 mg/kg led to tumor volume decrease on 39.1% in compare to tumor control (rats with GC).