

Резюме

Малюк Вл.И., Яцюта М.О., Рибальченко В.К., Малюк Вик.И., Репецкая А.Г., Макаренко М.В., Малюк И.В. *Антистрессовые свойства пирамидальных структур.*

Представлен обзор физиологических, биохимических и клинических работ преимущественно последних 10 лет, посвященных изучению антистрессовых свойств пирамидальных структур. Показано, что пребывание в пирамидах уменьшает выраженность биохимических и морфологических изменений при стрессах, что документировано определением содержания кортизола, малонового диальдегида, восстановленного глутатиона, активности глутатионпероксидазы, супероксиддисмутазы и других показателей в крови и тканях людей и подопытных животных.

Ключевые слова: стресс, пирамида, антиоксидантная система, кортикостероидные гормоны.

Summary

Maliuk Vol.I., Yatsiuta M.O., Rybalchenko V.K., Maliuk Vic.I., Repetska G.G., Makarenko M.V., Maliuk I.V. *Stress management with pyramidal structures.*

This is review of physiological, biochemical and clinical studies on stress management with pyramidal structures of last 10 years, for the most part. It was demonstrated that pyramid exposure could diminish biochemical and morphological changes during restraint stress and other kinds of stress. This was shown by estimation of plasma cortisol, erythrocyte malondialdehyde (MDA), and erythrocyte-reduced glutathione (GSH) levels, erythrocyte glutathione

peroxidase (GSH-Px) and superoxide dismutase (SOD) activities and other parameters in blood and tissues of humans and experimental animals.

Key words: stress, pyramid, antioxidant defence, corticosteroid hormones.

Рецензент: д.біол.н., проф.С.М.Федченко

УДК 577.151.04 : 615.37.21

ЗМІНА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СИРОВАТКИ КРОВІ ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ ПОХІДНОГО МАЛЕІМІДУ ЗА УМОВ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗУ

О.М. Філінська, С.В. Яблонська, О.В. Линчак,
О.Ю. Ямшанова, І.П. Котляр, Г.В. Островська,
В.К. Рибальченко

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Вступ

Значна частина розроблених потенційних лікарських засобів не проходить всі стадії доклінічних та клінічних випробувань через низьку ефективність, токсичність для організму, прояв побічних ефектів та виникнення резистентності при тривалому застосуванні. Новосинтезоване похідне малеїміду - 1-(4-Cl-бензил)-3-хлоро-4-(CF₃-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діон (MI-1) є потенційним протипухлинним засобом таргетної дії, що інгібує тирозинові протеїнкінази клітин, які беруть участь у процесах канцерогенезу [5]. Значна цитостатична дія препарату виявлена, зокрема, на культурах трансформованих і пухлинних клітин: на культурі клітин нирки ембріона людини лінії HEK 293, клітин лінії карциноми молочної залози MCF-7 [12] та на клітинах раку кишечника SW 620 [1].

Ферментативні системи клітини, які каталізують ключові реакції клітинного метаболізму і локалізовані в цитозолі та органелах, завжди чутливо реагують при дії екзогенних речовин на організм [3]. Одним з перших органів, що зазнає впливу речовин екзогенного походження є печінка - саме в ній здійснюються процеси детоксикації ксенобіотиків [6]. Високочутливими показниками стану печінки є активність внутрішньоклітинних ферментів аланін-амінотрансферази (КФ 2.6.1.2; АлАТ), аспарат-амінотрансферази (КФ 2.6.1.1; АсАТ), лактатдегідрогенази (КФ 1.1.1.27; ЛДГ) та лужної фосфатази (КФ 3.1.3.2; ЛФ) [2,

7]. Білірубін є одним з жовчних пігментів, що утворюється в основному у селезінці та печінці з гемоглобіну та виділяється з жовчю в кишечник. Надмірний його вміст в крові є наслідком захворювань, що супроводжуються з порушенням функціонування печінки або посиленням руйнуванням еритроцитів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана в рамках науково-дослідної теми "Дослідження механізмів функціонування органів травного тракту та розробка методів їх корекції" (№ державної реєстрації 0104U009878) Київського національного університету імені Тараса Шевченка як складової комплексної державної наукової програми "Здоров'я людини". Роботу виконано за грантом Президента України для підтримання наукових досліджень молодих учених.

Метою нашої роботи є дослідження активності ферментів сироватки крові АлАТ, АсАТ, ЛДГ, ЛФ та білірубину при дії похідного малеїміду за умов розвитку колоректального канцерогенезу, викликаного 1,2-диметилгіdraзином (ДМГ), який використовується для моделювання раку товстої кишки у тварин [9]. ДМГ зазнає метаболічної активації в печінці, чим спричиняє її ушкодження.

Матеріали та методи дослідження

Для проведення експериментів використовували білих щурів-самців з початковою масою 100-120 г. Щурі утримувались в стандартних умовах віварію. При проведенні досліджень на тваринах дотримувались принципів біоетики, законодавчих норм та вимог згідно з положенням "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей" (Страсбург, 1986) і "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах" ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Всі досліджувані речовини вводили протягом 20 тижнів: МІ-1 інтрагастрально в дозах 0,027 та 0,27 мг/кг маси тіла, що відповідає концентрації 10^{-6} та 10^{-4} моль/л в крові відповідно, а ДМГ підшкірно в дозі 20 мг/кг маси тіла, один раз на тиждень. МІ-1 розчиняли в соняшниковій олії, а ДМГ в фізіологічному

розчині. Тварин розподілили на чотири групи: №1 - контрольна, №2 - МІ-1 у двох вищенаведених дозах, №3 - ДМГ, №4 - сумісно ДМГ та МІ-1 у двох вищенаведених дозах. З метою стандартизації умов досліду, контрольну групу тварин було поділено на три підгрупи, що отримували: №1-1 - соняшникову олію інтрагастрально, №1-2 - фізіологічний розчин підшкірно, №1-3 - сумісно соняшникову олію та фізіологічний розчин відповідним чином.

Щурів декапітували під ефірним наркозом, кров збирали з пахової вени у пробірку без активатора зсідання крові. Через 20 - 30 хв після завершення процесу зсідання крові, її центрифугували на центрифугу ОПН-8 при швидкості 1000 г 10 хв для отримання сироватки. В сироватці щурів визначали активність АлАТ, АсАТ та ЛФ за допомогою стандартних наборів реактивів фірми "Філісіт-Діагностика" (Україна), активність ЛДГ - фірми "PLIVA Lachema" (Республіка Чехія), вміст загального і прямого білірубину - фірми "Реагент" (Україна). Коефіцієнт де Рітіса визначали за співвідношенням АсАТ/АлАТ. Статистичну обробку отриманих даних проводили на ПК за допомогою програм "Microsoft Excel" з розрахунком середніх величин, їхніх похибок, критерію Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення

Встановлено, що МІ-1 в досліджуваних дозах 0,027 та 2,7 мг/кг, що відповідає концентрації в крові 10^{-6} та 10^{-4} моль/л, знижує активність АлАТ в сироватці крові на 15% та 20% відповідно. Це свідчить про певне функціональне навантаження печінки, пов'язане з процесами детоксикації препарату [10]. Активність АлАТ в контрольній групі становить 1,83 мкмоль пірувату/год · мл (рис.1). Активність АсАТ (у контролі становить 2,49 мкмоль пірувату / год · мл) під впливом МІ-1 майже не змінюється. Ферментативна активність в контрольних групах тварин, що мають різну природу розчинника (фізіологічний розчин, соняшникову олію), між собою не відрізняється. Коефіцієнт де Рітіса при концентрації МІ-1 10^{-4} моль/л зростає до 1,95 за рахунок зниження активності АлАТ. В нормі співвідношення активності АсАТ/АлАТ (коефіцієнт де Рітіса)

у людей складає 0,9-1,75 [2]. При введенні ДМГ та його сумісному застосуванні з МІ-1 активність АЛАТ збільшується до 30%, активність АсАТ знижується на 10%. Коефіцієнт де Рітіса при дії ДМГ знижується до 0,875 внаслідок підвищення активності АЛАТ, та є ознакою незначного пошкодження гепатоцитів. За даними літератури [8], при умові, що ДМГ вводили щурам протягом чотирьох тижнів, він не викликає значних змін активності АЛАТ, АсАТ, вмісту загального білка, креатиніну, альбуміну та рівню гормону росту.

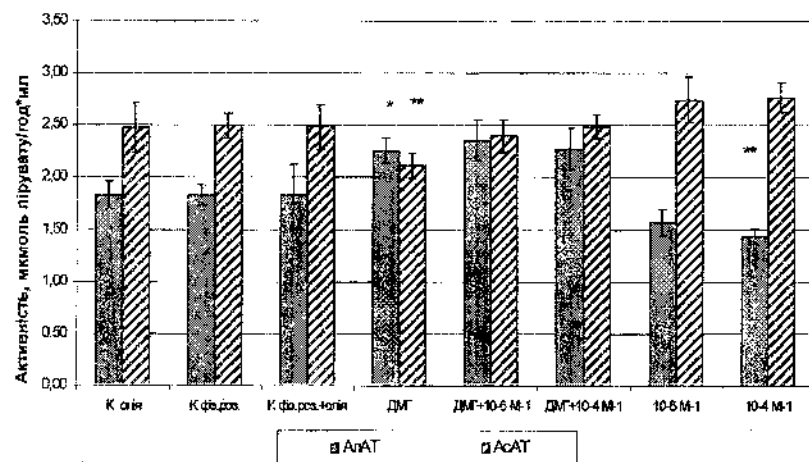


Рис. 1. Активність АЛАТ та АсАТ при дії похідного малеїміду (МІ-1) за умов розвитку колоректального канцерогенезу викликаного 1,2-диметилгідразинном (ДМГ). Зірочка (*), (**)- $p < 0,02$, $p < 0,05$ відповідно, відносно контролю.

Примітка: K_{олія} - контрольна група тварин, що отримувала соняшникову олію; K_{фіз.роз.} - контрольна група тварин, що отримувала фізіологічний розчин; K_{фіз.роз.+олія} - контрольна група тварин, що отримувала сумісно соняшникову олію та фізіологічний розчин; ДМГ - група тварин, якій вводили 1,2-диметилгідразин (ДМГ); ДМГ + МІ-1 10⁻⁶, або 10⁻⁴ моль/л - група тварин, що отримувала сумісно ДМГ та МІ-1 в дозі 0,027 та 2,7 мг/кг, що відповідає концентрації в крові 10⁻⁶ моль/л та 10⁻⁴ моль/л; МІ-1 10⁻⁶, або 10⁻⁴ моль/л - група тварин, що отримувала МІ-1 в дозі 0,027 та 2,7 мг/кг.

Підвищення концентрації білірубину в сироватці крові може бути наслідком ураження паренхіми печінки з порушенням її білірубін-видільної функції на фоні токсичних впливів речовин, порушення відтоку жовчі в кишечник, порушення печінкової секреції зв'язаного (прямого) білірубину в жовч, збільшення інтенсивності гемолізу еритроцитів [2]. Концентрація загального білірубину (зв'язаного та вільного) в сироватці крові при дії МІ-1 в обох дозах збільшується на 20% (рис. 2), порівняно з контрольним значенням (13,05 мкмоль/л). Але при цьому це збільшення викликане приростом прямого (зв'язаного) білірубину - за даних умов він зростає майже вдвічі, що складає 4,72 мкмоль/л при концентрації 10⁻⁶ моль/л і 5,06 мкмоль/л при концентрації 10⁻⁴ моль/л. В той же час під впливом ДМГ загальний білірубін підвищується в середньому на 50%, причому переважно за рахунок непрямого білірубину, що може свідчити про розвиток паренхіматозного гепатиту. Вміст прямого білірубину при дії ДМГ має лише тенденцію до збільшення на 15%. При дії ДМГ сумісно з МІ-1 рівень білірубину зберігається вищим, ніж в контрольних групах...

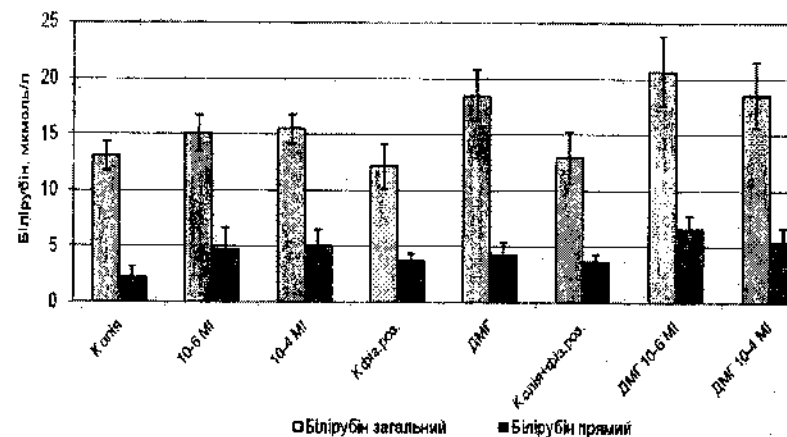


Рис.2. Вміст білірубину при дії похідного малеїміду (МІ-1) за умов розвитку колоректального канцерогенезу викликаного 1,2-диметилгідразинном (ДМГ). Примітка: див. рис. 1.

При визначенні активності лужної фосфатази (рис. 3) та ЛДГ в сироватці крові встановлено, що серед всіх дослідже-

них груп тварин підвищення активності цих ферментів виявлено у групах, що отримували ДМГ. Так, при дії самого ДМГ активність ЛФ підвищується на 70%, що може свідчити як про перебіг токсичних процесів в печінці під дією речовини, так і про розвиток канцерогенезу в кишечнику [4], а активність ЛДГ зростає лише на 20%. Відомо, що одним із маркерів розвитку колоректального раку є підвищення активності лужної фосфатази [11].

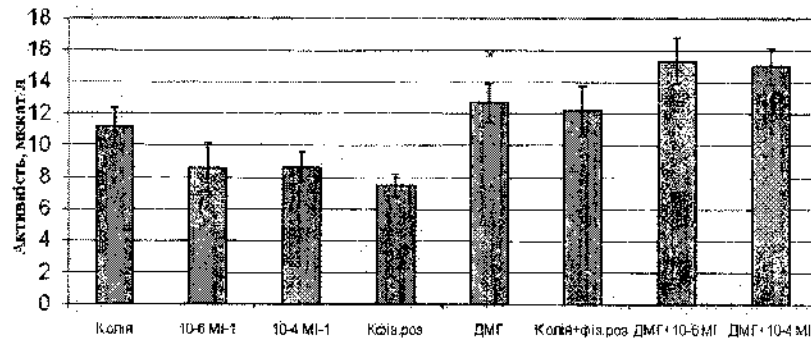


Рис. 3. Активність лужної фосфатази при дії похідного малеїміду (MI-1) за умов розвитку колоректального канцерогенезу викликаного 1,2-диметилгідразином (ДМГ). Примітка: див. рис. 1. Зірочка (*) - $p < 0,01$ відносно контролю з фізіологічним розчином.

Отже, встановлено, що похідне малеїміду - 1-(4-Cl-бензил)-3-хлоро-4-(CF₃-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діон (MI-1) не викликає істотних змін активності АсАТ, лужної фосфатази та лактатдегідрогенази. MI-1 в досліджуваних дозах 0,027 та 2,7 мг/кг знижує активність АлАТ в сироватці крові на 15% та 20% відповідно, що може свідчити про певне функціональне навантаження печінки, пов'язане з процесами детоксикації препарату. При дії MI-1 в обох досліджуваних дозах збільшується вміст загального білірубину в середньому на 20% та прямого білірубину майже вдвічі. Такі зміни можуть бути наслідком як збільшення інтенсивності гемолізу еритроцитів, так і порушення печінкової секреції. При введенні ДМГ активність АлАТ збільшується на 30%, активність АсАТ знижується на 10%, за рахунок чого знижується коефіцієнт де Рітіса до 0,88, що є ознакою незнач-

ного пошкодження гепатоцитів. Про пошкодження печінки під впливом ДМГ також свідчить підвищення активності лужної фосфатази та вмісту прямого білірубину, адже ДМГ зазнає метаболічної активації в печінці, що і призводить до її ушкодження. Також однією з ознак підвищення активності лужної фосфатази при дії ДМГ є розвиток раку товстого кишечника. За отриманими результатами досліджень встановлено, що MI-1 відновлює зміни активності ферментів викликані ДМГ.

Висновки

1. Встановлено, що MI-1 не викликає змін активності АсАТ, лужної фосфатази та лактатдегідрогенази. Активність АлАТ знижується на 20%, що може бути наслідком функційного навантаження печінки. Про порушення печінкової секреції при дії MI-1 свідчить підвищення вмісту прямого білірубину.

2. ДМГ призводить до функціональних змін в печінці: підвищується активність АлАТ та лужної фосфатази, вміст прямого білірубину. Підвищення активності лужної фосфатази при дії ДМГ також свідчить про розвиток колоректального канцерогенезу.

3. За біохімічними показниками сироватки крові MI-1 попереджає ушкодження печінки викликане 1,2-диметилгідразином.

Література

1. Дубініна Г.Г. Антипроліферативна дія нових похідних 1-(4-R-бензил)-3-R1-4-(R2-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діону / Г.Г. Дубініна, С.М. Головач, В.О. Козловський [та ін]. // Журнал органіч. та фармацев. хімії. - 2007. - Т.5, №1. - С. 39 - 49.
2. Маршал В. Дж. Клиническая биохимия / Маршал В. Дж. - М.; С-Пб.: Бином-Невский диалект, 1999. - С. 265-270.
3. Сластья Є.А., Вплив тривалого інтрагастрального введення щурам 7-гідроксикумарину на ферментативний статус сироватки крові / Є.А. Сластья, О.М. Філінська, С.В. Яблонська, В.К. Рибальченко // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології : зб. наук. праць. - 2007. - Вип. 3-4 (78-79). - С. 57-61.
4. Jacobs M.M. Biochemical and clinical effects of selenium on dimethylhydrazine-induced colon cancer in rats / M.M. Jacobs,

C.F. Forst, F.A. Beams // *Cancer Res.* - 1981. - Vol. 41, N 1. - P. 4458-4465.

5. Pat. 22204 (UA). Compound of 1,4-disubstituted 5-amino-1,2-dihydropyrrole-3-one having anticancer activity: G.G. Dubinina, Yu. M. Volovenko - 21.02.2006. Appl. U200601855. 25.04.2007.

6. Pineiro-Carrero V.M. Liver / V.M. Pineiro-Carrero, E.O. Pineiro // *Pediatrics.* - 2004. - 113, N 4. - P. 1097-1106

7. Pratt D.S. Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients / D.S. Pratt, M.M. Kaplan // *The New England Journal of Medicine.* - 2000. - Vol.342, № 17 - P. 1266-1271.

8. Salim E.I. Pituitary toxicity but lack of rat colon carcinogenicity of a DC-magnetic field in a medium-term bioassay / E.I. Salim, K.M. Omar, H.A. Abou-Hattab [e. a.] // *Asian. Pac. J. Cancer Prev.* - 2008. - Vol. 9, № 1. - P. 131-140.

9. Sengottuvelan M. Chemopreventive effect of trans-resveratrol - a phytoalexin against colonic aberrant crypt foci and cell proliferation in 1,2-dimethylhydrazine induced colon carcinogenesis / M. Sengottuvelan, P. Viswanathan, N. Nalini // *Carcinogenesis* - 2006. - Vol.27, № 5. - P. 1038-1046.

10. Solter P. Decreased Hepatic ALT Synthesis Is an Outcome of Subchronic Microcystin-LR Toxicity / P. Solter, Z. Liu, R. Guzman // *Toxicology and Applied Pharmacology.* - 2000. - Vol.164, № 2. - P. 216-220.

11. Walach N. Leukocyte alkaline phosphatase and serum alkaline phosphatase in patients with metastatic breast and colon cancer / N. Walach, Y. Gur // *Neoplasma.* - 1996. - Vol. 43, № 5. - P. 297-300.

12. Antiproliferative properties and low hepatotoxicity of new cytostatic maleimide derivate / S.Yablonska, O. Filinska, G. Ostrovska, O. Linchack, G. Dubinina, K. Nizheradze, V. Rybalychenko // *Biochemistry of cell regulation: 33rd FEBS Congress and 11th IUBMB Conference.* - Athens, Greece, 2008. - P. 348.

Резюме

Філінська О.М., Яблонська С.В., Лінчак О.В., Ямшанова О.Ю., Котляр І.П., Островська Г.В., Рыбальченко В.К. Зміна біохімічних

показників сироватки крові щурів під впливом похідного малеїміду за умов колоректального канцерогенезу.

Нове похідне малеїміду - 1-(4-Cl-бензил)-3-хлоро-4-(CF₃-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діон (MI-1), що є потенційним протипухлинним засобом таргетної дії, не викликає змін активності аспартат-амінотрансферази, лужної фосфатази та лактатдегідрогенази, активність аланін-амінотрансферази знижується на 20%. Про порушення печінкової секреції при дії MI-1 свідчить підвищення вмісту прямого білірубину в крові. MI-1 попереджає пошкодження печінки викликане 1,2-диметилгідразинном, активність ферментів сироватки крові при цьому відновлюється.

Ключові слова: похідне малеїміду, 1,2-диметилгідразин, аланін-амінотрансфераза, аспартат-амінотрансфераза, лужна фосфатаза, лактатдегідрогеназа, печінка.

Резюме

Филинская Е.М., Яблонская С.В., Линчак О.В., Ямшанова О.Ю., Котляр И.П., Островская Г.В., Рыбальченко В.К. Изменение биохимических показателей сыворотки крови крыс под влиянием производного малеимида в условиях колоректального канцерогенеза

Новое производное малеимида - 1-(4-Cl-бензил)-3-хлоро-4-(CF₃-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діон (MI-1), которое является новым потенциальным противоопухолевым препаратом таргетного действия, не вызывает изменений аспартат-амінотрансферазы, щелочной фосфатазы та лактатдегідрогеназы, активність аланін-амінотрансферазы понижается на 20%. Про нарушение секреции печени свидетельствует повышенная содержание білірубина в крові. MI-1 предупреждает повреждение печени вызванное 1,2-диметилгідразинном, активність ферментов сыворотки крови при этом восстанавливается.

Ключевые слова: производное малеимида, 1,2-диметилгідразин, аланін-амінотрансфераза, аспартат-амінотрансфераза, щелочная фосфатаза, лактатдегідрогеназа, печень.

Summary

Filinska O.M., Yablonska S.V., Lynchak O.V., Yamshanova O.Y., Kotlyar I.P., Ostrovska G.V., Rybalychenko V.K. Changes in biochemical parameters of rat serum under the influence of maleimide derivative in colorectal cancerogenesis.

Novel maleimide derivative - 1-(4-Cl-benzyl)-3-Cl-4-(CF₃-phenylamino)-1H-pyrrol-2,5-dione (MI-1) is novel potential anticancer medicine with target action. MI-1 does not cause changes in aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, lactate dehydrogenase activities in rat serum. Alanine aminotransferase activity decreases on 20% as a result of heightened functional load of liver. The high content of bilirubin is indicated about disturbance of liver function. MI-1 prevents liver damage caused by 1,2-dimethylhydrazine.

Key words: maleimide derivative, 1,2-dimethylhydrazine, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, lactate dehydrogenase, liver.

Рецензент: д.біол.н., проф.Б.П.Романюк