

УДК 577.112.083:616.33-002.44

© Коллектив авторов

## **ДИНАМИКА БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ У КРЫС ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОМ РОСТЕ В УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ АНТИОКСИДАНТНОГО ПРЕПАРАТА “ГРИНИЗАЦИЯ ГРИН R”**

***Я.Б. Раецкая\*, Т.В. Ищук, Л.И. Остапченко***

ННЦ “Институт биологии” Киевского национального университета  
имени Тараса Шевченка, Киев, пр-т Глушкова 12/2, 03127, Украина;  
эл. почта raetska@ua.ru

При условии злокачественного роста отмечено нарушение уровня всех биохимических показателей крови и повышение активности исследуемых ферментов. Препарат “Гринизация ГРИН R” оказывает стабилизирующее влияние на злокачественный рост карциномы Герена, на величины биохимических показателей в пределах, близких к нормальным величинам. Существенными оказались изменения в показателях, характеризующих обмен белков. Также, в ходе исследования наблюдали существенные изменения в показателях АСТ (аспартатаминотрансферазы) и АЛТ (аланинаминотрансферазы). При этом наблюдались достоверные различия ( $p < 0,05$ ) между исследуемыми группами. Показана динамика уменьшения среднего объема карциномы Герена у крыс при применении различных доз препарата “Гринизация ГРИН R”. Выявлено повышение и нормализации уровня общего белка у крыс с привитой карциномой Герена, получавших препарат “Гринизация ГРИН R” в дозе 115 мг/кг и 270 мг/кг. У крыс с привитой карциномой Герена, получавших препарат “Гринизация ГРИН R” в дозе 270 мг/кг, показатели концентрации альбумина приближались к физиологической норме. Выявлено, что показатели активности АСТ и АЛТ приближались к физиологической норме у крыс с привитой карциномой Герена, получавших препарат “Гринизация ГРИН R” в дозе 270 мг/кг. Данные эффекты наблюдались преимущественно на 18 и 23 сутки после привития опухоли по сравнению с опухолевым контролем (карцинома Герена).

**Ключевые слова:** злокачественный рост, обмен белков, сывороточные ферменты, антиоксиданты.

**ВВЕДЕНИЕ.** Онкологические заболевания среди населения разных стран достигли угрожающего уровня. Выбор верной стратегии лечения и разработка его новых способов требует понимания биохимических механизмов возникновения злокачественных новообразований, выяснение которых является актуальной проблемой фундаментальной биологии, медицины и онкологии [1, 2].

---

\* - адресат для переписки

## БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОМ РОСТЕ

На сегодняшний день экспериментальными и клиническими наблюдениями доказана перспективность использования средств природного происхождения в комбинированной терапии онкологических заболеваний [3-5]. Особый интерес вызывают препараты, повышающие противоопухолевую резистентность, препятствующие развитию метастазов и рецидивов опухолей, снижают токсические проявления химиотерапии. Следовательно, применение препаратов способных нормализовать состояние физиологической антиоксидантной системы и повысить способность организма противостоять опухолевому процессу важно для онкологии [6-9].

Одним из таких препаратов является “Гринизация ГРИН R” – разработанный компанией “Ворлд гринизейшен систем” (Украина), который представляет собой порошковую форму очищенных белковых фракций голотурии дальневосточной и вермикультуры, сделанных по специальной (неферментативной, многоступенчатой, низкотемпературной) технологии. Данная технология позволяет избежать денатурации белков, увеличивает их биодоступность, сохраняет глобулярное состояние с полным сохранением регуляторных пептидов ядерных ДНК и их функциональных качеств.

Для оценки физиологического состояния организма животных и человека используют биохимические показатели сыворотки крови. Ферментативные системы клеток, катализирующих ключевые реакции клеточного метаболизма, первыми реагируют при воздействии экзогенных веществ на организм [10-12]. Для оценки белкового и углеводного обмена основными показателями являются изменения содержания общего белка, альбумина.

Целью работы было оценить динамику средних объёмов карциномы Герена и биохимических показателей (общий белок, альбумин, АЛТ, АСТ) сыворотки крови крыс при применении различных доз препарата “Гринизация ГРИН R”.

**МЕТОДИКА.** Опыты проведены на 130 белых лабораторных крысах-самках массой  $180 \pm 20$  г, содержащихся на стандартной диете вивария. Животным трансплантировали карциному Герена путем подкожной инъекции в область бедра задней конечности 20%-ной суспензии опухолевых клеток на 0,9%-ном растворе NaCl, полученных от крысы-донора [13, 14].

Группе животных ежедневно в течение 25-ти дней после перевивки опухоли вводили исследуемый препарат в разных дозах.

Подопытные животные были разделены на 5 групп: контроль – интактные крысы, получавшие раствор NaCl – 1 мл; I – крысы с привитой карциномой Герена (опухолевый контроль), которые получали раствор NaCl – 1 мл; II – крысы с привитой карциномой Герена, которые получали препарат “Гринизация ГРИН R” в дозе 15 мг / кг; III – крысы с привитой карциномой Герена, которые получали препарат “Гринизация ГРИН R” в дозе 115 мг/кг; IV – крысы с привитой карциномой Герена, которые получали препарат “Гринизация ГРИН R” в дозе 270 мг / кг.

Объём опухоли начинали определять с 7-х сут после привития до 25 сут. Животных декапитировали под легким эфирным наркозом через 25 сут после перевивания опухолей.

Сыворотку крови отбирали после центрифугирования крови 10 мин при 1500 g [15]. Определение концентрации общего белка проводили с помощью биохимического анализатора “Humalyzer 3000” (“Human GmbH”, Германия) с использованием набора для колориметрического фотометричного определения концентрации общего белка биуретовым методом. Определение концентрации альбумина проводили с помощью биохимического анализатора

“Humalyzer 3000” с использованием набора для колориметрического определения концентрации альбумина с использованием бромкрезолового зеленого. Определение активности аспаратаминотрансферазы (АСТ) проводили с помощью биохимического анализатора “Humalyzer 3000” с использованием набора для колориметрического определения активности аспаратаминотрансферазы (АСТ; КФ 2.6.1.1). Определение активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) проводили с помощью биохимического анализатора “Humalyzer 3000” с использованием набора для колориметрического определения активности аланинаминотрансферазы (АЛТ; КФ 2.6.1.2).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью t-критерия Стьюдента. Для соответствующих расчётов использовали стандартный пакет программ статистического анализа Microsoft Excel. Вероятной считалась разница, если значение  $p < 0,05$  [15].

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ.** На первом этапе нашей работы, было исследовано влияние препарата на злокачественный рост у крыс с привитой карциномой Герена. В ходе исследования были получены следующие данные (табл. 1).

Таблица 1. Динамика средних объёмов карциномы Герена (КГ) у крыс при применении исследуемого препарата “Гринизация ГРИН R”.

Сутки, после привития опухоли	Группы животных			
	I	II	III	IV
<b>8</b>	<b>3,16±0,1</b>	<b>1,55±0,2*</b>	<b>1,9±0,1*</b>	<b>1,48±0,1*</b>
<b>11</b>	<b>16,7±2,3</b>	<b>15,87±0,8</b>	<b>14,0±10,5</b>	<b>9,12±0,6*</b>
<b>15</b>	<b>31,92±3,1</b>	<b>29,01±1,5</b>	<b>27,21±1,6</b>	<b>22,56±0,9*</b>
<b>18</b>	<b>60,53±5,6</b>	<b>54,12±5,4</b>	<b>50,34±3,9</b>	<b>30,64±1,8*</b>
<b>23</b>	<b>96,35±26,2</b>	<b>83,09±5,5</b>	<b>66,18±4,9</b>	<b>37,76±2,1*</b>

Примечание: Здесь и в таблицах 2-5 \* -  $p < 0,05$  в сравнении с КГ (группа I); КГ - карцинома Герена; I - КГ+1 мл NaCl; II - КГ+“Гринизация ГРИН R” в дозе 15 мг/кг; III - КГ+“Гринизация ГРИН R” в дозе 115 мг/кг; IV - КГ+“Гринизация ГРИН R” в дозе 270 мг/кг.

Нами было показано, что исследуемый препарат оказывает стабилизирующее влияние на злокачественный рост карциномы Герена. Данный эффект наблюдался преимущественно на 18 и 23 сутки после перевивания опухоли по сравнению с опухолевым контролем карциномой Герена (группа I).

При сравнительном изучении трёх вариантов доз исследованного препарата на крысах с привитой карциномой Герена, мы пришли к выводу, что 270 мг/кг является наиболее эффективной экспериментально установленной дозой (группа IV). Данное заключение было сделано по двум критериям: величине торможения роста опухоли и увеличению продолжительности жизни крыс по отношению к контролю.

На втором этапе наших исследований, были определены биохимические показатели сыворотки крови (общего белка, альбумина) у крыс с карциномой Герена в динамике её роста на фоне ведения антиоксидантных препаратов, в ходе исследования были получены следующие данные, представленные в таблице 2.

## БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОМ РОСТЕ

Таблица 2. Концентрация общего белка (г/л) в сыворотке крови крыс с привитой карциномой Герена (КГ) при применении препарата “Гринизация ГРИН R”.

Сутки, после привития опухоли	Группы животных				
	Контроль	I	II	III	IV
15	63,1±3,13	37,1±0,1	61,1±0,2*	36,9±0,1*	33,4±0,1*
18	62,3±3,1	36,7±0,3	42,2±0,8*	40,2±0,5*	55,2±0,6*
23	62,1±2,3	31,2±0,1	50,7±0,5*	56,8±0,6*	62,2±0,9*

Примечание. Здесь и далее в таблицах 3-5 контроль - 1 мл NaCl.

Как видно из приведенных в таблице 2 данных, у крыс с карциномой Герена (группа I), не получавших исследуемый препарат, содержание общего белка в сыворотке крови снижался на 23 сутки по сравнению с контролем почти в 2 раза (62,1±2,3 до 31,2±0,1,  $p<0,05$ ).

У крыс с привитой карциномой Герена получавших исследуемый препарат “Гринизация ГРИН R (группы II, III и IV) содержание общего белка в сыворотке крови подвергалось ряду изменений. Исследуя группы III и IV мы наблюдали, постепенное повышение содержания общего белка в сравнении с группой I, преимущественно на 18 и 23 сутки после привития опухоли, значение, которого приближалась к физиологической норме (62,1±2,3 до 62,2±0,9), что может указывать на восстановление функций печени.

Далее нами был рассмотрен показатель сыворотки крови (альбумин) у крыс с карциномой Герена в динамике её роста на фоне введения исследуемых препаратов, в ходе исследования были получены следующие данные, представленные в таблице 3.

Таблица 3. Концентрация альбумина (г/л) в сыворотке крови крыс с карциномой Герена (КГ) при применении исследуемого препарата “Гринизация ГРИН R”.

Сутки, после привития опухоли	Группа животных				
	Контроль	I	II	III	IV
15	41,1±0,12	30,6±0,6	46,7±0,2*	27,1±0,4*	30,9±0,5
18	41,12±0,2	30,7±0,5	33,7±0,1*	35,2±0,2*	32,2±0,1
23	41,1±0,1	29,1±0,1	38,7±1,5*	39,2±0,3	43,1±0,1*

При анализе лабораторных показателей у крыс с карциномой Герена (группа I), не получавших исследуемый препарат, содержание альбумина в сыворотке крови на 23 сутки после привития снижалось до 29,1±0,1 по сравнению с контрольной группой с 41,1±0,1 ( $p<0,05$ ).

У крыс с привитой карциномой Герена получавших исследуемый препарат “Гринизация ГРИН R” (II, III, IV), содержание альбумина в сыворотке крови подвергалось постепенным изменениям. В группах III и IV содержание альбумина постепенно повышалось 43,1±0,1 в сравнении с группой I, преимущественно на 23 сутки после привития опухоли и приближались к физиологической норме 41,1±0,1 ( $p<0,05$ ). Это может свидетельствовать о восстановлении функций печени.

На следующем этапе наших исследований, была определена активность биохимических показателей сыворотки крови (АСТ, АЛТ) у крыс с карциномой Герена в динамике её роста на фоне введения исследуемых препаратов. В ходе исследования были получены следующие данные (табл. 4)

Таблица 4. Активность АСТ (Ед/л) в сыворотке крови крыс с карциномой Герена (КГ) при применении исследуемого препарата “Гринизация ГРИН R”.

Сутки, после привития опухоли	Группа животных				
	Контроль	I	II	III	IV
15	37,1±0,12	200,6±0,6	146,7±0,2*	127,1±0,4*	130,9±0,5*
18	35,12±0,2	163,7±0,5	73,7±0,1*	85,2±0,2*	62,2±0,1*
23	31,1±0,1	109,1±0,1	68,7±1,5*	59,2±0,3*	53,1±0,1*

Как видно из приведенных в таблице 4 данных, у крыс с карциномой Герена (группа I), не получавших исследуемый препарат, активность АСТ в сыворотке крови на 23 сутки после привития возрастала в 3 раза по сравнению с контрольной группой (с 31,1±0,1 до 109,1±0,1).

У крыс с привитой карциномой Герена получавших исследуемый препарат “Гринизация ГРИН R” (группы II, III, IV) активность АСТ в сыворотке крови была ниже. Исследуя группы III, IV мы наблюдали постепенное снижение активности АСТ по сравнению карциномой Герена (I группа) преимущественно на 18 и 23 сутки после привития опухоли, которая приближалась до нормальным величин. Так активность АСТ в группах III, IV снижалась почти в 2 раза по сравнению с группой I (109,1±0,1 до 59,2±0,3 и 109,1±0,1 до 53,1±0,1), что может свидетельствовать о восстановлении функций печени, сердца и скелетных мышц.

Следующим этапом было определение активности АЛТ в сыворотке крови у крыс с карциномой Герена в динамике её роста на фоне введения антиоксидантных препаратов, в ходе исследования были получены следующие данные (табл. 5).

Таблица 5. Активность АЛТ (Ед/л) в сыворотке крови крыс с карциномой Герена (КГ) при применении антиоксидантного препарата “Гринизация ГРИН R”.

Сутки, после привития опухоли	Группа животных				
	Контроль	I	II	III	IV
15	45,1±3,13	137,1±0,1	101,1±0,2*	96,9±0,1*	103,4±0,1*
18	44,3±3,1	126,7±0,3	82,2±0,8*	80,2±0,5*	55,2±0,6*
23	42,1±2,3	91,2±0,1	60,7±0,5*	56,8±0,6*	49,2±0,9*

Как видно из приведенных в таблице 5 данных, у крыс с карциномой Герена (группа I), не получавших исследуемый препарат, активность АЛТ в сыворотке крови на 23 сутки после привития возрастала в 2 раза по сравнению с контрольной группой (с 41,1±2,1 до 92,2±0,1).



## БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОМ РОСТЕ

У крыс с привитой карциномой Герена получавших исследуемый препарат “Гринизация ГРИН R” (II, III, IV), активность АЛТ в сыворотке крови подвергалась постепенным изменениям. В группах III, IV активность АЛТ постепенно снижалась по сравнению с КГ (группа I) в 1,5-2 раза преимущественно на 23 сутки после привития опухоли и приближалась к физиологической норме (с  $91,2 \pm 0,1$  до  $56,8 \pm 0,6$ ;  $91,2 \pm 0,1$  до  $49,2 \pm 0,9$ ). Это может свидетельствовать о восстановлении функций печени.

В ходе исследования отмечена стабилизация всех биохимических показателей в пределах, близких к нормальным величинам. При этом наблюдались достоверные различия ( $p < 0,05$ ) между исследуемыми группами. Существенными оказались изменения в показателях, характеризующих обмен белков. Так, в группе IV, (крысы с привитой карциномой Герена, получавших препарат “Гринизация ГРИН R” в дозе 270 мг/кг) наблюдалась более интенсивная нормализация уровня общего белка и альбумина ( $p < 0,01$ ) особенно в сравнении с опухолевым контролем (группа I).

Также, в ходе исследования наблюдали существенные изменения в показателях АСТ и АЛТ. Так в группе IV (крысы с привитой карциномой Герена, получавшие препарат “Гринизация ГРИН R” в дозе 270 мг/кг) наблюдалось достоверное снижение активности этих ферментов ( $p < 0,01$ ) особенно по сравнению с опухолевым контролем (группа I).

Нами было показано, что препарат имеет стабилизирующее влияние на злокачественный рост карциномы Герена. Данный эффект наблюдался преимущественно на 8 и 23 сутки после привития по сравнению с карциномой Герена (группа I).

По нашему мнению, выявленные различия обусловлены положительным влиянием препарата “Гринизация ГРИН R” на органный кровоток и микроциркуляторное русло внутренних органов, а также на предупреждение развития катаболических реакций, развивающихся вследствие патологических процессов в организме.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ.

1. Полученные результаты свидетельствуют о том, что наиболее эффективной дозой препарата была 270 мг/кг. При использовании препарата в указанной дозе наблюдалось достоверное уменьшение объема карциномы Герена почти в три раза.

2. Установлено понижение уровня общего белка в сыворотке крови при условии злокачественного роста.

3. Выявлено снижение уровня альбумина в сыворотке крови крыс при злокачественном росте карциномы Герена.

4. Установлено повышение активности АСТ в сыворотке крови крыс при злокачественном росте карциномы Герена.

5. Выявлено повышение активности АЛТ в сыворотке крови крыс при злокачественном росте карциномы Герена. Показано снижение активности АЛТ и приближения значения к физиологической норме у крыс с привитой карциномой Герена, получавших препарат “Гринизация ГРИН R” в дозе 270 мг/кг.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Davis I.D. (2000) Immunol. Cell. Biol., **78**, 179-195.
2. Gavilondo I.V., Larrick J.W., Borrebaeck C.A.K. (2000) Immunologist, **8**, 58-65.
3. Вершинина С.Ф., Потеевина Е.В. (2003) Вопр. онкол., **49**(2), 145-151.

4. Немцова Е.Р., Сергеева Т.В., Андреева К.Л. и др. (2002) Рос. онкол. журн., **3**, 30-34.
5. Бородин Ю.И., Горчаков В.Н. (2005) Сибир. онкол. журн., **2**, 45-49.
6. Bagchi D., Garg A., Krohn R.L., Bagchi M., Bagchi D.J., Balmoori J., Stohs S.J. (2005) Gen. Pharmac., **30**(4), 1-6.
7. Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух И.М. (1991) Перекисное окисление и радиация, Наук. думка, Київ.
8. Киреев Г.В., Ассесорова Ю.Ю., Юсупова А.А., Ибрагимов Ф.А., Голубенко З. (2006) Сибир онкол. ж., **2**, 42-46.
9. Верстакова О.Л. (2004) Росс. биотерапев. ж., **3**(2), 17.
10. Dos Remedios C.G., Chahabra D., Kekic M. et al. (2003) Physiol. Rev., **83**(2), 433-473.
11. Gremm D.A., Wegner D. (2000) Eur. J. Biochem., **267**(14), 4339-4345.
12. Ткачук В.А. (ред.) (2004) Клиническая биохимия 2е изд., испр. и доп., "Гэотар-Мед", Москва.
13. Кавецкий Р.Е. (1981) Реактивность организма и опухолевый рост, Наукова думка, Київ.
14. Димант И.И., Шарипов Р.К., Муратходжаев Н.К. и др. (1992) Окислительные процессы и опухолевый рост, Ташкент. Изд. - Полиграф. объединение им. Ибн.Сины, Ташкент.
15. Иванов Ю.И., Погорелюк О.М. (1990) Статистическая обработка результатов медико-биологических исследований на микрокалькуляторах за программами, Медицина, Москва.

Поступила: 10. 09. 2012.

**DYNAMICS OF RAT BLOOD SERUM BIOCHEMICAL PARAMETERS UNDER  
MALIGNANT GROWTH IN CONDITION OF THE ANTIOXIDANT SUBSTANCE  
"GREENIZATION GREEN R" INTRODUCTION**

***Ya.B. Raetska, T.V. Ischuk, L.I. Ostapchenko***

Taras Shevchenko National University of Kyiv, ESC "The Institute of Biology",  
prosp. Glushkova, 2, Kyiv, 03022 Ukraine; e-mail: raetska@ya.ru

Under malignant growth, the alterations of blood serum biochemical parameters including activity of studied enzymes were observed. The drug "Grinization GRIN R" was shown to stabilize the tumor growth of Guerin's carcinoma as well as biochemical parameters in the range close to normal values. The changes of protein metabolism parameters appeared to be significant. Also the considerable changes of AST and ALT activities were demonstrated. In the case, there was significant difference between the groups studied ( $p < 0.05$ ). Administration of rats with drug "Grinization Grin R" in different doses led to decreasing of average tumor volume in dynamics. Increasing and normalization of total protein level in rats with Guerin's carcinoma was established under "Grinization GRIN" administration in doses 115 mg/kg and 270 mg/kg. The meaning of albumin concentration approached to physiological normal value under "Grinization GRIN" administration in dose 270 mg/kg. Meanwhile AST and ALT activities were approaching to normal values in rats with Guerin's carcinoma under "Grinization GRIN" administration in dose 270 mg/kg. Such effects were observed mainly at the 18<sup>th</sup> and 23<sup>th</sup> days after tumor inoculation in comparison with tumor control (Guerin's carcinoma) values.

**Key words:** malignant growth, protein metabolism, blood serum enzymes, antioxidants.