

УКРАЇНСЬКА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК
ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ І БІОХІМІЇ ТВАРИН

На правах рукопису

ФУНДИТУС Володимир Ярославович

УДК 546.681:616-006.444-085.277.3-092.9

ПРО ІНГІБУЮЧИЙ ВПЛИВ ГАЛІЮ
НА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИЙ ЛІМФОСАРКОМАТОЗ

03.00.04 - біохімія

А в т о р е ф е р а т
дисертації на здобуття вченого ступеня
кандидата біологічних наук

Львів - 1992





00825669 (-)

Робота виконана на кафедрі медичної хімії Івано-Франківського державного медичного інституту.

НАУКОВИЙ КЕРІВНИК: Заслужений діяч науки України,
доктор медичних наук, професор
БАБЕНКО Георгій Овксентійович

ОФІЦІЙНІ ОПОНЕНТИ: академік ВАСГНІЛ, доктор біологічних наук, професор ПАЛФІЙ Ф.Ю.
доктор медичних наук, професор
ГОНСЬКИЙ Я.І.

ПРОВІДНА ОРГАНІЗАЦІЯ: КАФЕДРА БІОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ
КИЇВСЬКОГО ДЕРЖАВНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМ. Т.Г. ШЕВЧЕНКА

Захист дисертації відбудеться "23" лютого 1993 р.
в 10 год. на засіданні спеціалізованої ради Д 020.14.01
в Інституті фізіології і біохімії тварин.
Адреса інституту: 290034, м. Львів, вул. В.Стуса, 38.

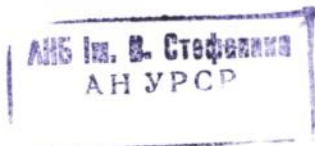
З дисертацією можна ознайомитись в бібліотеці інституту фізіології і біохімії тварин.

Автореферат розісланий "21" січня 1993 р.

Вчений секретар
спеціалізованої ради,
кандидат біологічних наук

Робак

РОБАК В.Е.



AB - 26, 390

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Вивчення молекулярних механізмів протипухлинної дії хіміопрепаратів є одним з найважливіших напрямків сучасної експериментальної онкології, що веде до раціонального використання їх в клініці.

Неорганічним сполукам хімічного елемента галію притаманна добре виражена протипухлинна дія, що встановлена як в експериментах *in vitro* на культурах злоякісно трансформованих клітин /З.Софьина и др., 1980; M.M.Hart et al., 1971; J.S.Basey et al., 1981, 1982; Y.Carpentier et al., 1990/, так і *in vivo* на ряді штабів перевивних пухлин /З.П.Софьина и др., 1980; М.Г.Иванов и др., 1981; M.M.Hart, R.H.Adamsen, 1971; L.J.Anghileri, 1975; P.H.Collery et al., 1986, 1989/, а з кінця 70-их років нітрат та хлорид галію проходять клінічні випробування в США, як хіміопрепарати /A.Y.Bedikian et al., 1978; C.J.Fabian, C.H.Baker, 1982; R.P.Warrell et al., 1983, 1987, 1988; J.L.Domingo, J.Corbella, 1991/.

Використання сполук радіоактивних ізотопів галію в якості радіофармацевтичних препаратів для візуалізації пухлин при скануванні /D.C.Мечев и др., 1982; C.L.Edwards, R.L.Hayes, 1969; S.Solfanelli et al., 1987; M.Katagiri et al., 1987; H.Peylan-Bassi et al., 1989; F.V.Hagemeister et al., 1990 та ін./ привело до детального вивчення шляхів нагромадження галію в тканині пухлини. Встановлено, що іони галію зв'язуються в крові з залізотранспортним білком трансферрином /S.M.Larson et al., 1979a, 1979b, 1980a, 1980b; U.Scheffel et al., 1984, 1985, 1986; Y.Ohrubo et al., 1989/, а потім у вигляді галій-трансферринового комплексу роникають в злоякісно трансформовану клітину, локалізуючись в лізосомах /D.C.Swartzendruber et al., 1971; S.Takeda et al., 1977, 1978; E.Aulbert et al., 1976, 1980; J.-P. Berry et al., 1983, 1984; A.Ando et al.,

1982, 1990/. Дискутується питання про роль в цих процесах інших залізов'язувачих білків - лактоферину та феритину /K.Nakashima et al., 1984; L.J.Anghileri et al., 1985, 1989; W.R.Harris, 1986; A.G.Desai et al., 1987/. Значна увага приділяється впливу галію на деякі сторони метаболізму кальцію, магнію та заліза, зокрема на конкуренцію при зв'язуванні з макромолекулами /P.Collery et al., 1981, 1986, 1990; R.Vistelle et al., 1989; K.Higashi et al., 1989; L.J.Anghileri, 1990; T.J.Hall, T.J.Chambers, 1990/. Клінічні та експериментальні дослідження, що направлені на вивчення протипухлинної активності сполук галію, торкаються, головним чином, вибору оптимальної дози, найбільш ефективного способу введення та токсичності галію /J.L.Domingo et al., 1987; R.P.Warrell et al., 1988; K.Jabbouxy et al., 1989; J.L.Domingo, J.Corbella, 1991/, в той час, коли механізм протипухлинної дії галію залишається, як і раніше, нерозкритим.

Мета і завдання дослідження. Метою даної роботи було вивчення інгібувального впливу галію на ріст лімфосаркоми Пліса і пошук можливих шляхів його антибластичної активності. Виходячи з поставленої мети сформульовані наступні завдання:

- вивчити показники обміну галію /розподіл в органах і баланс/ в динаміці розвитку пухлини;
- вивчити вплив введення різних доз галію, починаючи з біотичних, на ріст лімфосаркоми Пліса і вибір оптимальної дози та способу введення препарату;
- дослідити вплив галію на обмін кальцію, магнію, заліза, міді та цинку - біометалів, що відіграють важливу роль в процесах канцерогенезу та злоякісного росту, а також на активність деяких залізо-, мідь- і цинкзалежних металоферментів;
- вивчити вплив галію на біохімічні неспецифічні сироватки крові тварин з імплантованою пухлиною;

- дослідити реакцію бласттрансформації лімфоцитів, як показник неспецифічної реактивності організму, при введенні галію тваринам з імплантованою лімфосаркомою Пліса.

Наукова новизна. В ході проведених досліджень вперше встановлено наявність дисбалансу галію і перерозподіл його на органічному і тканинному рівнях в процесі розвитку пухлини. Показано, що введення галію в дозах, близьких до біотичних, не викликає протипухлинного ефекту, і тільки багаторазове збільшення доз приводить до значного інгібування злоякісного росту /оптимальна доза - 10 мг/кг ваги тварин в перерахунку на метал/. Аскорбінова кислота при комбінованому способі введення її з галієм підсилює антибластичну активність останнього, але не усуває його токсичних проявів.

В експериментах на тваринах з імплантованою пухлиною вперше вивчено вплив введення галію на динаміку вмісту в органах і балансу біометалів, які відіграють значну роль в процесах регуляції проліферації клітин і злоякісного росту /кальцій, магній, цинк, залізо і мідь/, а також на активність спряжених з ними металоферментів. Показано, що галій проявляє більш або менш виражений антагонізм по відношенню до всіх вищевказаних біоелементів, викликаючи зниження рівня утримання їх організмом або від'ємний баланс. При цьому відмічена нормалізація під впливом галію показників активності залізо-, мідь- та цинкзалежних металопротеїдів - каталази, насиченості трансферину, лактатдегідрогенази, карбоангідрази, герулоплазміну.

При вивченні бласттрансформації лімфоцитів вперше встановлено, що галій значно пригнічує кількість утворення лімфоцитів в організмі щурів з імплантованою лімфосаркомою і не проявляє стимулюючого впливу на індуквану мітогеном бласттрансформацію лімфоцитів периферичної крові.

Вперше показано, що введення галію значно інгібує інтенсифікацію процесів вільнорадикального окислення в сироватці крові щу-

рів, викликану розвитком швидкозростаючої лімфосаркоми Пліса, але при цьому не запобігає внаслідок системи антиоксидантного захисту в крові тварин з імплантованою пухлиною.

Наукова і практична цінність роботи.

1. Встановлено, що ріст пухлини супроводжується значними змінами в показниках обміну галію на організменному, органному та тканинному рівнях.
2. Терапевтичним ефектом сполуки галію володіють в дозах, що багатократно перевищують біотичні і являються субтоксичними або токсичними.
3. При комбінованому способі застосування сполук галію сумісно з аскорбіновою кислотою підсилюється протипухлинна дія галію.

Основні положення, що вносяться на з'ясування.

1. Процес розвитку пухлини супроводжується значними порушеннями обміну галію в організмі, але лише багатократне збільшення кількості до біотичних доз може викликати протипухлинну дію.
2. Галій, введений в оптимально інгібує пухлинний ріст дозі, викликає достовірні зміни обміну кальцію, магнію, заліза, цинку та міді на органному і організменному рівнях що може являтися причиною фактором його протипухлинної дії.
3. Введення галію і аскорбінової кислоти запобігає інтенсифікації вільнорадикального окислення в процесі лімфосаркоматозу, що являється позитивним фактором у взаємовідносинах між організмом та пухлиною, направленим на інгібування злоякісного росту.
4. Введення галію в оптимальній дозі значно пригнічує спонтанну бласттрансформацію лімфоцитів крові тварин з імплантованою лімфосаркомою Пліса, що свідчить про зниження кількості асоційованих з пухлиною антигенів, але не впливає на індуковану мітогеном бласттрансформацію.

Впровадження результатів досліджень в практику. Отримані ре-

зультати про пригнічення злоякісного росту введенням оптимальної дози галію сумісно з аскорбіновою кислотою включені в лекційний курс по біологічній хімії /"Біологічна роль мікроелементів" та "Біохімія раку"/ і лекційні курси по онкології та фармакології /"Хіміотерапія пухлини"/ Івано-Франківського медичного інституту. В лабораторії емісійного спектрального аналізу кафедри біохімії Івано-Франківського медичного інституту на протязі ряду років використовується вдосконалений нами метод визначення слідових кількостей важких металів /включаючи галій/ в біологічному матеріалі /посвідчення на раціоналізаторську пропозицію №1533/92 від 12 листопада 1985 р./.

Публікації і апробація роботи. Результати досліджень доповідались і обговорювались на ХХІ обласній науковій конференції молодих вчених медиків /Івано-Франківськ, 1966/, У Українському біохімічному з'їзді /Івано-Франківськ, 1987/, виїзній сесії Наукової Ради "мікроелементи в біології" при АН СРСР /Тернопіль, 1988/, І республіканській конференції /виїзна сесія Українського мінералогічного товариства/ по біомінералогії, присвяченій 125-річчю акад. В.І.Вернадського /Луцьк, 1988/, виїзній сесії секції біоорганічної хімії АН СРСР "Іони металів в біосистемах" /Івано-Франківськ, 1989/, XI Всесоюзній конференції "Біологічна роль мікроелементів і їх застосування в сільському господарстві і медицині" /Самарканд, 1990/, на спільному засіданні Івано-Франківського обласного відділення Українського біохімічного товариства, обласного відділення Українського терапевтичного товариства та кафедри нормальної фізіології Івано-Франківського медичного інституту /Івано-Франківськ, 1992/.

По матеріалах дисертації опубліковано 7 робіт, список яких приводиться в кінці автореферату.

Об'єм і структура дисертації. Дисертація об'ємом 163 сторінок

лаинописного тексту включає вступ, 6 розділів, які зміщують огляд літератури, опис об'єкту та використовуваних методів, викладення результатів експериментальних досліджень, обговорення результатів та висновки. Показчик літератури включає 383 джерела /в тому числі 267 іноземних/. Робота ілюстрована 20 таблицями та 9 малюнками.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Досліди проведені на 199 білих беспородних щурах-самцях молодого статевозрілого віку вагов 0,15 - 0,25 кг. В якості експериментальної моделі злоякісної пухлини використано лімфосаркому Піт-сеп /ЛСП/, перещеплення якої проводили підшкірним введенням 0,4 мл 30%-ної суспензії подрібненої тканини пухлини в фізіологічному розчині в зовнішню поверхню стегна. Матеріал для перещеплення брали на 14 - 16 день після імплантації.

На першому етапі досліджень вивчено зміст в органах і тканинах і баланс в організмі галію, кальцію, магнію, заліза, міді та цинку до імплантації пухлини і на 5-й, 10-й та 15-й день після перещеплення ЛСП. В ті ж строки визначено активність металопротеїдів, інтенсивність процесів вільнорадикального окислення та здатність до бласттрансформації лімфоцитів крові піддослідних тварин.

Метод другого етапу досліджень було визначення мех антибластичної активності галію та вибір оптимальної дози. В якості досліджуваної сполуки галію вибраний добре розчинний у воді галій /III/ азотнокислий 8-водний виробництва Новосибірського заводу рідкісних металів /ТУ 6-09-04-8-74/. Препарат випробовувався в широкому діапазоні доз: від 0,0027 до 27,34 мг/кг ваги тварин в перерахунку на метал. Протипухлинний ефект оцінювали по проценту гальмування росту пухлини та по проценту зростання середньої тривалості життя тварин.

На заключному етапі досліджень з метов пошукання протипухлин-

ної дії галію та зниження галієвої інтоксикації застосований комбінований спосіб введення галію та аскорбінової кислоти. При цьому схема введення галію не змінювалась /з 2-го по 6-й день після імплантації пухлини тваринам внутрим'язево вводився галій в концентрації 10,0 мг/кг/, а аскорбінову кислоту добавляли в питну воду з розрахунку 50 мг/кг ваги тіла на добу, починаючи з 7-го дня і до завершення експерименту. В тварин піддослідних груп до перецеснення пухлини, на 5-й, 10-й, 15-й і 30-й день досліду визначались ті ж показники, що й в контрольній групі.

Визначення елементного складу біологічних проб /кров, органи, харчові продукти та екскременти/ проводили після сухої мінералізації вдосконаленим нами /Г.О.Бабенко, В.Я.Фундигус, 1969/ методом емісійного спектроскопічного аналізу на приладі ИСП-30 /СРСР/ та методом атомно-абсорбційної спектрометрії на приладах ААС-1 "Carl Zeiss" /НДР/ та С-302 /СРСР/.

Активність лактатдегідрогенази в сироватці крові визначали по F. Wroblewski, J.S. La Due /Э.Щеклик, 1966/. Активність в крові карбоангідрази - по В.П.Вендту, каталази - по А.Н.Баху та С.Зубковій, церулоплазміну та насиченість трансферину в сироватці крові - по Г.О.Бабенко /Г.О.Бабенко, 1968/.

Для оцінки перебігу процесів вільнорадикального окислення в сироватці крові вимірювались показники спонтанної та індукованої іонами двовалентного заліза біохемілімінесценції по методу В.А.Владімірова /1972/ за допомогою квантометра з використанням ФСП-39. Реакцію бласттрансформації лімфоцитів периферичної крові проводили по методу К.Ваш, К.Ніршхогн в мікромедіації С.Ф.Чернушенко та Л.С.Когосової /1976/.

Статистична обробка даних експериментальних досліджень проводилась з використанням методів варіаційної статистики на мікроЕОМ типу МК-61 по програмах /В.І.Іванов, О.В.Погорелюк, 1990/.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

При вивченні розподілу галію в організмі здорових щурів максимальний вміст його виявлено в паренхіматозних органах, зокрема в печінці /274,1 \pm 24,2 мкг/кг сирої ваги/, селезінці /83,0 \pm 8,7 мкг на кг/ та нирках /33,3 \pm 2,9 мкг/кг/. Значна кількість галію міститься також в кістковій тканині /33,9 \pm 1,1 мкг/кг/. Мінімальною концентрація галію спостерігається в крові /7,6 \pm 0,4 мкг/кг/ та шкірі з шерстю /7,3 \pm 0,3 мкг/кг/ здорових щурів. В результаті проведення балансових досліджень встановлено, що в нормі утримання галію організмом становить +0,114 \pm 0,013 мкг/добу, і що відповідає 33,0% від кількості спожитого з продуктами металу.

В процесі розвитку лімфосаркоми Пятса /ЛСП/ спостерігається перерозподіл галію в органах і тканинах піддослідних тварин. Так, знижується його концентрація в печінці, селезінці, шкірі, нирках і серці, в той час, коли зростає вміст даного металу в кістковій тканині і мозку, а в термінальній стадії розвитку цухлини також в м'язевій тканині та крові. Ріст ЛСП супроводжується зменшенням поступання галію в організм з продуктами і з одночасно наростаючою нирковою екскрецією металу, що в результаті викликає поступовий перехід від утримання його в організмі до від'ємного балансу у всіх піддослідних тварин /-0,106 \pm 0,026 мкг/добу/. При цьому зменшення виділення галію з фекаліями знаходиться в прямій залежності від зменшення кількості спожитої їжі, а зростання його виведення в сечеві вказує, очевидно, на прискорення метаболізму даного елемента в процесі злоякісного росту і звільнення його в результаті посиленого розпаду тканин на завершальному етапі розвитку неоплазми.

Чітко виражений перехід від утримання до втрати галію організмом в динаміці розвитку ЛСП та перерозподіл його на тканевому

рівні не виключав можливості інгібування росту пухлини введенням біотичних доз даного елемента. В зв'язку з цим нами проведено вивчення впливу галію на ріст пухлини в широкому діапазоні доз /табл. I/.

Відновлення втрачених кількостей галію введенням дози металу, близької до біотичної /0,0027 мг/кг/, не викликає пригнічення злоякісного росту. Не спостерігається протипухлинної дії і при збільшенні вказаної дози в 10 і 100 разів, але починаючи з дози 2,7 мг на кг ваги в перерахунку на метал і вище, галій проявляє значну антибластичну активність по відношенню до ЛСН. Враховуючи, що галій в дозах, які перевищують 13,67 мг/кг на добу приводить до інтоксикації організму, що супроводжується прогресуючим зниженням ваги піддослідних тварин, діареєю, порушенням функції нирок та загибеллю частини тварин в більш ранні строки, наступні експерименти проводились з оптимальною дозою галію - 10,0 мг/кг.

Для запобігання прояву токсичних ефектів галію нами застосований комбінований спосіб введення галію сумісно з аскорбіновою кислотою /АК/. Вибір АК, яка добре зв'язувала галій *in vitro*, ґрунтувався на тому, що вітамін С здатний знижувати токсичні ефекти відомих хіміопрепаратів /В.С.Мосієнко та ін., 1990; J.S.Lazo, M.R.Nascker, 1985/, володіє антиканцерогенною та протипухлинною дією і може підсилити антибластичну активність протипухлинних препаратів /М.А.Мицкая, 1986; С.А.Хрусталева, 1986; Р.В.Бирк і др., 1988; В.В.Бенеманский і др., 1990; В.С.Мосієнко та ін., 1990; С.Н.Ратк, 1985; R.V.Wittes, 1985; S.S.Mirvish, 1986/, а також добре відомі антиоксидантна та імуномодуюча дія АК /К.Д.Плещиний, 1979; А.В.Сергеев, 1983; Е.П.Сидорик і др., 1989; В.Н.Суколянский, 1990/.

Встановлено, що при комбінованому способі введення галію сумісно з АК значно посилюється протипухлинна дія металу. Так, лише в одній тварині із 45, які отримували галій та АК, відмічена по-

Таблиця І.

Зростання середньої тривалості життя /СТЖ/ та гальмування росту лімфосаркоми Пліса в залежності від дози галів та застосування АК.

Доза галів, мг/кг	Кількість тварин в групі	Кількість тварин з пухлинами:	Середня маса пухлини, г /M ^{±m} /	Гальмування росту пухлини, %	СТЖ, дні /M ^{±m} /	Зростання СТЖ, %
Контроль	28	28	16,21±1,58	-	17,1±0,43	-
0,0027	10	10	17,84±1,10	-10,1	18,4±0,93	7,6
0,027	10	10	14,66±1,82	9,6	17,8±0,49	4,1
0,27	10	10	17,40±1,24	-7,3	17,8±0,73	4,1
2,73	10	10	2,85±0,64 ^н	82,4	18,0±1,10	5,3
10,00	16	2	0,33±0,25 ^н	98,0	27,4±1,71 ^н	60,2
10,00 ^н	45	1	0,05±0,01 ^н	99,7	32,8±3,80 ^н	91,8
13,67	10	3	0,44±0,23 ^н	97,3	16,0±1,00	-6,4
27,34	10	2	1,40±0,20 ^н	91,4	12,6±0,87 ^н	-26,3

Примітка: ^н - комбінований спосіб введення галів сумісно з АК;

^н - різниця статистично достовірна в порівнянні до контролю.

дза ракового вузла більш м'якої консистенції і значно меншого за розмірами. Не дивлячись на те, що загибель щурів в обох дослідних групах припадає на один і той же строк /18 - 19-й день після імплантації/ тривалість життя в групі тварин, які додатково отримували АК, має чітко виражену тенденцію до зростання /табл. I/.

Після 5-разового введення галію /сумарна доза металу 50 мг на кг ваги тварини/ вміст його у всіх органах і тканинах, які досліджувались, значно зростає з максимальним нагромадженням в кістковій тканині /178,6±18,7 мг/кг/ і мінімальним - в мозку /2,92±0,3 мг/кг/. Прогресуюче зростання вмісту галію після припинення його введення має місце в печінці, селезінці та легенях, в той час як швидке зниження надмірної концентрації металу спостерігається в крові, м'язевій тканині та серці піддослідних тварин.

В результаті проведення балансових досліджень встановлено, що внутрішньозалево введенний галій виводиться, в основному, з сечею, а його виділення з фекаліями не перевищує 30% від загальної добової екскреції. При цьому ниркова екскреція галію носить фазний характер з максимумами виведення на 5-й та 15-й день після початку його введення, а виведення металу з фекаліями наростає поступово і досягає максимуму на 15-й день експерименту. Двофазність виведення з сечею та переважання ниркової екскреції підтверджуються дослідженнями фармакокінетики препаратів галію в онкологічних хворих /S.W.Hall et al., 1979; I.H.Krakoff et al., 1979/. Введення АК сприяє виведенню галію з організму, про що засвідчує статистично достовірне /P<0,05/ зростання виділення галію з фекаліями та добре виражена тенденція до збільшення ниркової екскреції. Однак значна частина галію навіть через 25 днів після припинення його введення залишається в органах і тканинах піддослідних тварин.

Таким чином, встановлено, що імплантація ЛСП викликає перерозподіл галію в органах і тканинах щурів з імплантованою ЛСП та

призводить до переходу від позитивного балансу до чітко вираженого негативного; протипухлинна активність галію проявляється в субтоксичних та токсичних концентраціях; при комбінованому введенні галію сумісно з АК підможиться антибластична дія металу; АК сприяє прискореному виведенню галію з організму, хоча значна кількість його на протязі тривалого часу залишається в органах і тканинах експериментальних тварин.

Враховуючи чітко виражену протипухлинну дію галію та недостатнє висвітлення механізму його антибластичної активності нами вивчався вплив галію на обмін біометалів, які приймають участь в регуляції процесів росту і розвитку клітин /включаючи зокрема трансформовані/, та активність спряжених з ними металопротеїдів, на інтенсивність перебігу процесів вільнорадикального окислення і на імунологічну реактивність організму, ураженого злоякісним ростом.

Встановлено, що в динаміці розвитку ЛСП проходить поступове зниження концентрації кальцію в кістковій тканині з одночасним підвищенням його вмісту в нирках і виникненням незначної гіперкальціємії. Синдром гіперкальціємії виявляється досить часто і в онкологічних хворих /до 40%/ і не зв'язаний з якою-небудь певною локалізацією пухлини чи ураження кісток метастазами /І.П.Терещенко, А.П.Кашуліна, 1983/. По даних проведених нами балансових досліджень /табл. 2/, ріст ЛСП на ранньому етапі розвитку супроводжується тенденцією до зростання утримання кальцію організмом, а потім, в фазі експоненціального росту, відмічається зниження рівня балансу цього макроелемента. Термінальна стадія розвитку пухлини характеризується значною втратою кальцію організмом.

Введення галію викликає значне посилення резорбції кісток з одночасним підвищенням рівня гіперкальціємії. При цьому концентрація кальцію в крові прогресивно зростає на протязі всього експери-

Таблиця 2.

Вплив введення галію та АК на динаміку балансу біоелементів в процесі розвитку ЛСП /м²./

Група тварин	Дні після імпл.	Баланс біометалів /мг/добу/				
		кальцій	магній	цинк	залізо	мідь
Контроль	Норма	+1,649±0,136	+5,876±0,745	+0,284±0,030	+0,123±0,018	+0,020±0,003
	5	+1,804±0,163	+5,645±0,557	+0,305±0,035	+0,160±0,029	+0,014±0,007
	10	+1,475±0,188	+5,772±1,015	+0,391±0,052	+0,112±0,048	+0,008±0,006
	15	-1,331±0,239 ^ж	+2,477±0,576 ^ж	+0,317±0,036	+0,231±0,023 ^ж	+0,010±0,004
Галій /5х10,0 мг/кг/	Норма	+1,649±0,136	+5,876±0,745	+0,284±0,030	+0,123±0,018	+0,020±0,003
	5	-1,903±0,734 ^{жIII}	+5,368±0,234	+0,280±0,020	+0,080±0,029	+0,004±0,003 ^ж
	10	+0,914±0,184 ^ж	+2,263±0,853 ^{жIII}	+0,171±0,017 ^{жIII}	+0,001±0,006 ^{жIII}	-0,005±0,001 ^{жIII}
	15	+0,314±0,064 ^{жIII}	+3,303±0,348 ^ж	+0,231±0,044	+0,094±0,017	-0,013±0,002 ^{жIII}
	30	-0,137±0,330 ^ж	+3,243±0,133 ^ж	+0,155±0,026 ^ж	+0,133±0,009	+0,004±0,006 ^ж
Галій /5х10,0 мг/кг/ +АК	Норма	+1,649±0,136	+5,876±0,745	+0,284±0,030	+0,123±0,018	+0,020±0,003
	5	-1,903±0,734 ^{жIII}	+5,368±0,234	+0,280±0,020	+0,080±0,029	+0,004±0,003 ^ж
	10	+0,196±0,218 ^{жIII}	+3,170±0,774 ^ж	+0,234±0,025 ^{III}	+0,114±0,025	-0,014±0,003 ^{жIII}
	15	-4,889±2,563 ^ж	+1,248±0,963 ^ж	+0,226±0,042	+0,039±0,051 ^{III}	-0,011±0,003 ^{жIII}
/50,0мг/кг/добу/	30	-1,058±0,362 ^ж	+1,787±1,074 ^ж	+0,115±0,025 ^ж	-0,107±0,062 ^ж	+0,003±0,004 ^ж

Примітка: ^ж - різниця статистично достовірна в порівнянні з нормою;^{III} - різниця статистично достовірна в порівнянні з контролем.

менту. Відмічене підвищення вмісту кальцію також і в м'язевій тканині, однак тут воно носить тимчасовий характер і після припинення введення галію швидко нормалізується. В результаті балансових досліджень виявлено, що під впливом галію відбувається швидкий перехід від утримання кальцію до його втрати організмом /табл. 2/.

При визначенні динаміки вмісту магнію в органах і тканинах щурів з імплантованою ЛСП, а також його обміну на організменному рівні по результатах балансових досліджень в процесі розвитку пухлини встановлено, що лише в термінальній стадії злоякісного росту утримання магнію знижується вдвічі у порівнянні з нормою /табл. 2/. Значних змін в показниках обміну на організменному та тканинному рівні не виявлено.

Введення галію, або галію в комбінації з АК, викликає через 10 днів після імплантації пухлини значне зниження утримання магнію організмом, яке зберігається до завершення експерименту. При комбінованому способі введення галію та АК спостерігається також статистично достовірне зниження вмісту магнію в крові /з $68,5 \pm 2,8$ до $60,1 \pm 1,6$ мг/кг сирової ваги/ піддослідних тварин.

Враховуючи, що двовалентні катіони Ca^{2+} та Mg^{2+} відіграють вирішальну роль в контролі росту клітин /Р.Дж.Джалізі, 1985; Н. Rubin, 1975, 1982а, 1982б/, викликає галієм ефекти гіперкальціємії з одночасним розвитком дефіциту іонів магнію /зниження рівня утримання організмом та концентрації в крові/ можуть являтися одним з факторів, що спричиняють протипухлинну дію галію.

В процесі розвитку ЛСП вміст цинку в тканині пухлини стрімко зростає /з $54,0 \pm 2,5$ мг/кг на 5-й день після імплантації до $79,3 \pm 1,7$ мг/кг на 10-й день/, проявляючи максимальне нагромадження в фазі експоненціального росту. Надалі концентрація цинку в пухлині не зростає, але зберігається на досягнутому рівні до завершення експерименту. Підвищення рівня цинку спостерігається також в кіст-

ковія і м^нязевій тканинах, селезінці, нирках і мозку, але при цьому, починаючи з 10-го дня експерименту, статистично достовірно $P < 0,01$ знижується концентрація його в крові /табл. 3/. Всі вищевказані зміни вмісту цинку в органах і тканинах при злоякісному рості проходять на фоні зростаючої ретенції цього біометалу на організменному рівні /табл. 2/. Отримані результати добре узгоджуються з даними багаточисельних досліджень, в яких вказується, що тканини пухлин різноманітних злоякісних новоутворів характеризуються підвищеною спорідненістю до біометалу цинку, а неопластичний ріст супроводжується зниженням рівня даного біоелемента в крові при зростанні утримання його організмом /Г.О.Бабенко, 1981, 1982, 1983; Г.О.Бабенко, Т.П.Максимчук, 1982; В.М.Карліньський, Г.Г.Богомолова, 1985; Г.О.Бабенко та ін., 1986; А.О.Клименко, 1987; В. J. Mills et al., 1981; М. E. Elmes et al., 1985; В. Ujjani et al., 1986 та ін./.

В процесі розвитку ДСП змінюється активність цинкзалежних металоферментів карбоангідрази та лактатдегідрогенази /ЛДГ/, причому зміни ці носять різнонаправлений характер /табл. 3/. Активність карбоангідрази цільної крові на ранньому етапі пухлинного росту знижується з послідувачим по туповим відновленням ферментативної активності, яка все ж не досягає норми. В той час активність ЛДГ в сироватці крові на протязі всього експерименту прогресивно зростає. Підвищення активності ЛДГ при злоякісних новоутвореннях є широко відомим фактом і зв'язується з інтенсифікацією аеробного гліколізу /Е.Г.Горожанская, В.С.Шапот, 1971, 1980; М.А.Мицман, 1981, 1982, 1986; Т.Нап et al., 1985; Н.С.Drexler et al., 1985/.

Введення галію в організм тварин з імплантованою ДСП значно впливає на обмін цинку та активність цинкзалежних металоферментів, викликаючи: а/зниження вмісту або запобігання нагромадженню його в більшості досліджуваних органів і тканин, включаючи

Таблиця 3.

Динаміка вмісту цинку, заліза та міді в крові і активність металоферментів при розвитку ЛСП /М[±]м/.

Вміст біометалів в крові /мг/кг сухої речовини/

Дні : після : імпл. :	цинк	залізо	мідь
Норма	6,7 [±] 0,4	590,4 [±] 18,4	1,31 [±] 0,17
5	6,9 [±] 0,3	579,5 [±] 16,9	1,35 [±] 0,07
10	4,7 [±] 0,4 ^ж	527,8 [±] 22,6 ^ж	1,23 [±] 0,11
15	4,9 [±] 0,4 ^ж	532,0 [±] 15,5 ^ж	0,97 [±] 0,08

Активність металоферментів

Дні : після : імпл. :	Загальна ЛДГ /МО/	Карбоангід- раза /ум.од./	Трансферин /П _{тр} /	Каталаза /к. ч./	Церухо- плазмін /ум.од./
Норма	226,4 [±] 14,2	1,07 [±] 0,02	0,220 [±] 0,003	9,07 [±] 0,23	50,9 [±] 1,3
5	352,2 [±] 21,9 ^ж	0,58 [±] 0,03 ^ж	0,199 [±] 0,005 ^ж	9,46 [±] 0,43	71,2 [±] 2,6 ^ж
10	483,0 [±] 32,9 ^ж	0,65 [±] 0,03 ^ж	0,170 [±] 0,003 ^ж	5,17 [±] 0,38 ^ж	59,4 [±] 3,2 ^ж
15	1368,5 [±] 114,8 ^ж	0,76 [±] 0,04 ^ж	0,354 [±] 0,022 ^ж	1,93 [±] 0,25 ^ж	58,5 [±] 2,9 ^ж

Примітка:^ж - різниця статистично достовірна в порівнянні до норми.

кісткову і м'язеву тканини, печінку, селезінку, нирки, легені і серце; б/підвищення вмісту цинку в шкірі, яка відіграє роль депо-зуючого цинку органу, та крові /табл. 4/; в/зниження утримання цинку на організменному рівні /табл. 2/; г/нормалізацію цинкзалежних металоферментів ЛДГ та карбоангідрози /табл. 4/.

Коканцерогенні властивості цинку, іони якого необхідні для синтезу ДНК та клітинної проліферації, загальновідомі /Б.А.Андроникашвили, В.Г.Есипова, 1982; Т.П.Максимчук, Г.О.Бабенко, 1990; А.С.Prasad, 1979; J.P.W.Jilman, S.H.H.Swierenda, 1984/. Встановле-на нами здатність галію при введенні його в організм тварин, ура-жених злоякісним ростом, запобігати ретенції цинку являється над-

Таблиця 4.

Вплив комбінованого введення галію та АК на вміст цинку, заліза та міді в крові і активність металоферментів у щурів з імплантованою ЛСП /М[±]м/.

Вміст біометалів в крові /мг/кг сирової речовини/

Дні після імпл.:	цинк	залізо	мідь
Норма	6,7±0,4	590,4±18,4	1,31±0,17
5	9,2±0,2 ^{III}	418,8±14,7 ^{III}	1,28±0,09
15	9,7±0,3 ^{III}	449,4±22,5 ^{III}	1,03±0,09
30	10,1±0,4 ^K	427,3±24,6 ^K	1,97±0,16 ^K

Активність металоферментів

Дні після імпл.:	Загальна ЛПГ /МО/	Карбоангід-раза /ум.од./	Трансферин /Птр./	Каталаза /к.ч./	Щуко-плазмин /ум.од./
Норма	226,4±14,2	1,07±0,02	0,220±0,003	9,07±0,23	50,9±1,3
5	253,0±32,5 ^{III}	0,71±0,05 ^{III}	0,247±0,007 ^{III}	8,43±0,31	65,2±1,9 ^K
15	261,6±42,4 ^{III}	0,94±0,06 ^{III}	0,214±0,006 ^{III}	8,67±0,48 ^{III}	50,0±2,5 ^{III}
30	221,4±42,4	0,92±0,08	0,191±0,006 ^K	7,82±0,34 ^K	46,3±2,1

Примітка: ^K-різниця статистично достовірна в порівнянні з нормою,

^{III}-різниця статистично достовірна в порівнянні з контролем.

звичайно важливим фактом в розкритті шляхів протипухлинної дії галію.

В динаміці росту ЛСП вміст заліза в крові зменшується /табл. 3/ з одночасним статистично достовірним підвищенням його концентрації в печінці /P<0,001/ та селезінці /P<0,001/ піддослідних тварин. Отримані результати узгоджуються з відомими уявленнями про те, що розвиток неоплазми супроводжується поміром і стійков анемією /F.Servantes et al., 1984/, а також зростанням кількості феритину в печінці /P.Jacobs, M.Worwood, 1975/ та зменшенням середньої три-

важості життя еритроцитів /М.Н.Заррабі, et al., 1977/. При проведенні балансових досліджень встановлено, що в процесі росту ЛСП у щурів утримання заліза має тенденцію до зростання на ранньому етапі лімфосаркоматозу, потім його баланс знижується і лише на заключній стадії розвитку пухлини стрімко зростає /табл. 2/.

Виявність антагонізму між іонами заліза та галію, що передбачалась багатьма дослідниками /W.P.Bradley et al., 1979; U.Scheffel et al., 1984, 1985; K.Nigashi et al., 1989 та ін./, підтверджується наступними встановленими нами фактами: зниження утримання заліза організмом після введення галію /табл. 2/, зменшення його вмісту в крові /табл. 4/, а також тим, що галій перешкоджає нагромадженню заліза печінкою піддослідних тварин.

Динаміка показника насиченості трансферину сироватки крові залізом при лімфосаркоматозі в щурів /табл. 3/ відображає динаміку вмісту заліза в крові та утримання його організмом. Ріске зростання цього показника на заключному етапі експерименту залежить, очевидно, як від підвищеного рівня балансу заліза, так і від додаткового поступання в кров цього біометалу в результаті посиленого розпаду еритроцитів та тканини пухлини. Під впливом галію насиченість трансферину не знижується, хоча рівень заліза в крові значно падає, і даний факт, очевидно, свідчать про насичення молекули трансферину до нормальних величин двома видами катіонів - галію /III/ та заліза /II/.

При рості ЛСП прорісивно знижується активність залізозалежного ферменту каталази в цільній крові /табл. 3/, що особливо характерно для розвитку пухлини /Д.Гринштейн, 1951; Р.В.Кавецький, 1977; А.О.Клименко, 1981; Г.О.Бабенко, М.І.Шкроміда, 1985/. Під впливом галію активність каталази знижується менш виражено /табл. 4/, ніж в контрольній групі тварин, що свідчить про значне зниження інтенсивності зокремого росту.

Враховуючи отримані нами ефекти галію на обмін заліза і приймачи до уваги той факт, що надлишок заліза перешкоджає захисту організму від неоплазії, а тварини з надлишковою нагрузкою залізом характеризуються підвищеним ризиком розвитку пухлини /E.Weinberg, 1981/, то наявність антагонізму між залізом та галієм можна також розцінювати, як певну ланку в молекулярному механізмі протипухлинної активності останнього.

Вивчення вмісту міді в органах і тканинах в процесі розвитку ДСП показало, що концентрація цього біометалу значно підвищується в печінці тварин /з $4,90 \pm 0,32$ мг/кг в нормі до $9,82 \pm 1,42$ мг/кг в фазі експоненціального росту пухлини/ та тканині пухлини /з $0,81 \pm 0,09$ мг/кг на 5-й день експерименту до $1,41 \pm 0,10$ мг/кг на 15-й день/ із зниженням його вмісту в селезінці, нирках, серці та м'язевій тканині. Характеризується пухлинний ріст також і частковим втратами здатності утримувати мідь на організменному рівні /табл.2/.

На ранньому етапі розвитку лімфосаркоми спостерігається різке підвищення оксидазної активності мідьзалежного ферменту церулоплазміну /табл. 3/, яка надалі дещо знижується, але на протязі всього експерименту залишається статистично достовірно вищою, ніж в нормі.

Введення галію /або галію сумісно з АК/ викликає: а/більш значне зниження утримання міді на ранньому етапі лімфосаркоматозу з послідовною втратою цього біоелемента організмом /табл. 2/; б/нормалізацію вмісту міді в печінці піддослідних тварин; в/зниження активності церулоплазміну в порівнянні до контрольних тварин /табл. 3 та 4/.

Враховуючи, що мідь, як біотик, може запобігати злоякісній трансформації клітин і формуванню пухлини /Z.Brada, H.H.Altman, 1978; Y.Jamane, K.Sakai, 1980/, а введення міді в організм збільшує СЖ тварин, уражених пухлиною /Я.І.Гонський, 1972; В.Е.Крисс и

др., 1966; D.H.Petering, 1960/, то вщевказані ефекти галію на обмін міді в організмі визначають швидше його токсичну, а не протипухлинну дію.

При ресстрації спонтанної /СХЛ/ та індукованої іонами двовалентного заліза /ІХЛ/ хемілімінесценції сироватки крові встановлено, що ріст ЛСН супроводжується посиленням процесів вільнорадикального окислення /ВРО/ та зростанням вмісту гідроперекисів, про що засвідчує статистично достовірне $P < 0,001$ підвищення рівня світлосуми СХЛ та збільшення амплітуди швидкого спалаху ІХЛ. В той же час зростання кута підйому та світлосуми повільного спалаху надслабкого свічення із значним скороченням його латентного періоду вказує на перенапруження і виснаження системи антиоксидантного захисту організму. Отримані результати узгоджуються з даними ресстрації хемілімінесценції сироватки крові у випадку швидкоростучих експериментальних пухлин /Я.І.Серкіз та ін., 1984/.

Введення галію в комбінації з АК значно пригнічує інтенсифікацію процесів ВРО, що проявляється на хемілімінограмі зниженням світлосуми СХЛ $P < 0,01$ та амплітуди швидкого спалаху ІХЛ $P < 0,01$ в порівнянні з контролем уже на 5-й день експерименту. Параметри ІХЛ, які характеризують антиокислювальну активність /АОА/ сироватки крові вказує на те, що галій практично не впливає на підсилення захисних властивостей крові від продуктів ВРО ліпідів. Лише на 15-й день після трансплантації пухлини має місце нормалізація показників світлосуми повільного спалаху $P < 0,01$ та тривалості його латентного періоду $P < 0,05$, в той час як кут підйому повільного спалаху ІХЛ проявляє тенденцію до зниження. Таким чином, на завершальній стадії спостереження /15-й - 30-й день дослідження/ проходить поступове відновлення АОА сироватки крові тварин з імплантованою ЛСН і, можливо, в більшій мірі за рахунок додаткового застосування АК, антиоксидантні властивості якої добре відомі.

При вивченні реакції бласттрансформації лімфоцитів /РЕТЛ/ периферичної крові, як одного з показників системи неспецифічної протицуклинної резистентності організму, встановлено, що розвиток ЛСП супроводжується статистично достовірним / $P < 0,001$ / підвищенням спонтанного утворення лімфобластів /при відсутності в інкубаційному середовищі ФГА/. Інкубація лімфоцитів в присутності мітогену проявляє чітку тенденцію до зниження кількості бластних форм в порівнянні з нормою, а починаючи з 10-го дня експерименту не відмічається різниці між кількістю лімфобластів, що утворюються як в присутності ФГА, так і без його додавання в інкубаційне середовище. Підвищення рівня спонтанної РЕТЛ спостерігалось і раніше в тварин з тією ж цуклиною /С.В.К. Іанова, 1975; І.Г.Макаренко та ін., 1983/, а також при інкубації лімфоцитів хворих зі злоякісними лімфопроліферативними захворюваннями /М.О.Раушенбах та ін., 1978/. Вказаний факт розцінюється, як результат стимуляції лімфоцитів цуклиноасоційованими антигенами і вважається показником патологічного стану організму /П.Дінг, 1971/.

Введення галію викликає пригнічення проліферативної активності лімфоцитів при проведенні спонтанної РЕТЛ, показуючи зниження кількості лімфобластів більш, як в 1,7 рази по відношенню до контролю / $P < 0,001$ /, але практично не впливає на кількість бластоподібних форм, що утворюються при індукovanій ФГА бласттрансформації. При комбінованому введенні галію в комбінації з АК відмічено, що вітамін С підсилює РЕТЛ як в присутності мітогену, так і без його додавання в інкубаційне середовище. Враховуючи, що АК в фізіологічних дозах здатна стимулювати різноманітні ланки імунітету, і, в першу чергу, Т-систему /К.Д.Плещитий, 1979; Д.Н.Лазарева, Б.К.Алехин, 1986/, то не виключено, що у випадку лімфосаркоматозу застосування АК може сприяти підвищенню протицуклинної резистентності організму.

Підсумовуючи отримані результати можна стверджувати, що антагоністичні взаємовідносини між галієм та металами-біотиками є важливим ланкою молекулярного механізму протипухлинної активності галію. Наслідком вказаного антагонізму являється нормалізація активності залізо-, мідь- та цинкзалежних металоферментів і інтенсивності процесів ВРО, а зниження під впливом галію спонтанно протікаючої бласттрансформації лімфоцитів свідчить про зменшення кількості асоційованих з пухлиною антигенів.

В И С Н О В К И

1. Розвиток лімфосаркоми Пліса супроводжується міжорганним та тканиним перерозподілом галію, проявляючись нагромадженням в кістковій тканині, мозку і тканині пухлини, а на заключній стадії росту пухлини також в м'язевій тканині та крові. Зниження вмісту галію спостерігається в печінці, селезінці, нирках, серці та шкірі. Незначний дисбаланс галію на ранньому етапі лімфосаркоматозу переходить в чітко виражений від'ємний баланс його на заключному етапі розвитку пухлини.
2. Встановлено, що галій при внутрішньозабірному введенні в дозі, що перевищує 2,7 мг/кг, володіє добре вираженою протипухлинною активністю по відношенню до лімфосаркоми Пліса в щурів. Більш низькі дози, приближені до біотичних, неефективні, а дозам, що перевищують 13,7 мг/кг, притяганий токсичний ефект.
3. Аскорбінова кислота при комбінованому способі введення її з галієм підсилює протипухлинну активність останнього при експериментальному лімфосаркоматозі в щурів і сприяє прискореному виведенню надлишку металу з організму.
4. Введення галію тваринам, ураженим пухлиною, в значній мірі впливає на обмін кальцію, магнію, заліза, міді та цинку, сприяючи формуванню зниженого утримання або від'ємного балансу, що може бути причиною фактором протипухлинної дії галію, так як відно-

шення названих металів до процесів канцерогенезу та пухлинного росту загальновідоме.

5. Протипухлинна дія галію супроводжується нормалізацією активності залізо-, мідь- та цинкзалежних ферментів - каталази, церулоплазміну, карбоангідрази, лактатдегідрогенази та насиченості трансферину.
6. Під впливом оптимально інгібуючої ріст пухлини дози галію має місце зниження інтенсивності процесів вільнорадикального окислення і спонтанної біохемілюмінесценції сироватки крові, але при цьому введення галію не запобігає виснаженню запасів біоантиоксидантів, про що свідчать показники ініційованої іонами двовалентного заліза хемілюмінесценції. При комбінованому способі введення галію з аскорбіновою кислотою, остання викликає швидке відновлення антиокислювальної активності сироватки крові тварин з імплантованою пухлиною.
7. Введення галію в оптимальній дозі значно пригнічує спонтанну бласттрансформацію лімфоцитів периферичної крові тварин з імплантованою лімфосаркомою Плісса, що свідчить про зниження рівня асоційованих з пухлиною антигенів, але не впливає на утворення лімфобластів у відповідь на інкубацію в мітогені, що ставить під сумнів його можливу роль в посиленні неспецифічної протипухлинної резистентності організму. Додаткове введення аскорбінової кислоти, яка викликає активацію як спонтанної, так і індукованої ФА бласттрансформації, може сприяти підвищенню клітинно-опосередкованої імунологічної реактивності.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ, ЯКІ ВІДОБРАЖАЮТЬ ЗМІСТ ДИСЕРТАЦІЇ

- I. Изменение активности некоторых металлоферментов у крыс с перивной лимфосаркомой Плисса // Микроэлементы в биологии и их применение в медицине и с.-х.: /Тез. докл./.- Чебоксары, 1986.-

Ч.2.- С.54.

2. Баланс галлия у крыс с перевивной лимфосаркомой Плисса // Тез. докл. ХХІ обл. научн. конф. молодых ученых медиков.- Ивано-Франковск, 1986.- С.4.
3. Показники обміну галію у щурів з лімфосаркомою Пліса на рівні цілісного організму й окремих його тканин та органів // Укр. біохім. з"їзд: /Тез. доп./.- Київ, 1987.- Ч.2.- С.284-285.
4. Влияние галлия на развитие лимфосаркомы Плисса в зависимости от введенной дозы // I респ. конф. по биоминералогии, посвященная 125-летию акад. В.И.Вернадского: /Тез. докл./.- Луцк, 1988.- С.117.
5. О применении эмиссионного спектрохимического метода для определения следов тяжелых металлов в биологическом материале // Новое в лабораторной диагностике болезней внутренних органов: /тез. докл. ІУ съезда респ. научн. общ-ва врачей-лаборантов/.- Ворошиловград, 1989.- С.461-462 /соавт. Бабенко Г.А./.
6. Показатели обмена цинка, железа и меди у крыс с лимфосаркомой Плисса при лечении опухли нитратом галлия // Микроэлементы в биологии и их применение в с.-х. и медицине: /Тез. докл./.- Самарканд, 1990.- Ч.І.- С.507-508.
7. Вплив галію і аскорбінової кислоти на реакцію бласттрансформації лімфоцитів /РБТД/ у щурів з лімфосаркомою Пліса // УІ Укр. біохім. з"їзд: /Тез. доп./.- Київ, 1992.- Ч.2.- С.235.

Зам. 584, тир. 100.

Підписано до друку 2.11.1992, ф-т паперу 60x84 ^{1/16},
об'єм - 1,0 д.арк.

Відділ оперативної поліграфії ОУС, м.Івано-Франківськ.

1109401

AB 26.390

AB 26.390