

УДК 546.719:577.352.3:612.111

О. О. Сорочан, О. Д. Жабицька, Н. І. Штеменко

Дніпропетровський національний університет

ВМІСТ ВІЛЬНОГО ГІСТИДИНУ В ЕРИТРОЦИТАХ І ПЛАЗМІ КРОВІ ПРИ РОЗВИТКУ ТА ГАЛЬМУВАННІ КАРЦИНОМИ ГЕРЕНА T₈

Показано кількісні зміни гістидину в еритроцитах і плазмі крові щурів при розвитку карциноми Герена T₈. Встановлено, що під впливом пухлини відбуваються суттєві зміни концентрації гістидину в бік збільшення. При введенні комплексних сполук ренію (III) концентрація дослідженої амінокислоти знижувалася до рівня норми порівняно з групою, для котрої як коригуючий фактор використовували цисплатин.

Quantitative changes of histidine (*His*) in the erythrocytes and blood plasma of the rats with carcinoma Geuren T₈ are described. It is stated that under influence of tumors the essential increase of the *His* concentrations occurs. Under injection of the Rhenium (III) complex the amino acid concentration decreased to the normal level in comparison with the group, for which the cys-platinum was used as an antitumor factor.

Вступ

У нормі в організмі у складі вільних амінокислот (free amino acids – *FAA*) плазми крові найбільшу кількість складають глутамінова кислота та глутамін, аланін, серин, треонін, пролін (до 50 %). Це пов'язано з провідними функціями перелічених амінокислот у реакціях трансамінування, транспорту та метаболічною активністю тощо. Гістидин (*His*) не належить до мажорних амінокислот, у нормі його кількість у середньому не перевищує 1,8 мкг/мл пулу *FAA*, що не перевищує 3–5 % загального пулу *FAA* [1; 14]. *His* є незамінною амінокислотою, синтез якої не відбувається в організмі ссавців. Відомо, що *His* – природний інгібітор розкладу перекисів жирних кислот [5], що обмежує утворення малонового діальдегіду у тканинах при інфаркті міокарда; він необхідний для утворення червоних і білих клітин крові, у значній кількості входить до складу гемоглобіну; *His* – попередник гістаміну (нейромедіатора, стимулятора секреції шлункового соку), захищає організм від шкідливої дії радіації, сприяє виведенню важких металів із організму [15].

Хоча відомо, що у нормі еритроцити містять 6 мг% аміноазоту [3] і займають 36–48 % об'єму крові [10], склад *FAA* еритроцитів раніше не вивчався. А саме еритроцити найбільш чутливі до впливу різних патологій [7; 8; 9].

При патологічних станах відбувається різке підвищення кількості вільних амінокислот, що пояснюється підвищенням швидкості процесу протеолізу [12; 13; 16], син-

тезу білкових молекул, залученням амінокислот до обмінних процесів, шляхів перетворення кожної з них і т. і., що у свою чергу залежить від стану організму [12–14; 16].

У наших попередніх роботах показано якісний і кількісний склад вільних амінокислот крові здорових і хворих на гемолітичну анемію [6]. Співвідношення загальної кількості вільних амінокислот «плазма : клітина» (*ПК*) складало у здорових людей 9 : 1, а у хворих на анемію – 2 : 1. Тобто зменшення гемоглобіну у крові хворих супроводжувалося зміною біохімічних властивостей еритроцитів.

Зафіксовано підвищення як внутрішньоклітинного, так і позаклітинного пулу *FAA* під впливом патології. Також визначено вміст *FAA* у плазмі та еритроцитах крові при розвитку лейкозу та впливу сполуки ренію, яка поряд із стабілізацією клітин не сприяла зміні складу *FAA* [4].

Мета даної роботи – з'ясувати питання про зміни вільного *His* плазми крові та еритроцитів при розвитку карциноми Герена T_8 та її гальмуванні, вивчити ці показники для еритроцитів у моделі канцерогенезу, виявити додаткові характеристики патологічного стану, засновані на показниках амінокислотного обміну.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили на щурах лінії Вістар вагою 100–150 г віком два місяці. Суспензія клітин карциноми Герена T_8 (30 % у фізіологічному розчині) перещеплювалася здоровим щурам від пухлиноносіїв, отриманих у Інституті онкології та радіології ім. Кавецького МОЗ України. Цисплатин та ліпосомні форми кластерних сполук ренію готували в Українському державному хіміко-технологічному університеті на кафедрі неорганічної хімії [11–13]. Досліджували такі кластерні сполуки ренію з органічними лігандами (КРОЛ): $Re_2(i-C_3H_7COO)_4Cl_2$ – *Re 1*; цис- $Re_2(AdCOO)_2Cl_4 \cdot 2CH_3CN$ – *Re 2* (*Ad* – адамантил).

Цисплатин вводили одноразово у дозі 8 мг/кг на 9-у добу після перещеплення пухлини [17]. Сполуки ренію вводили за схемою антиоксидантної терапії [16], починаючи з третьої доби після перещеплення пухлини з інтервалом в одну добу в кількості 3,4 ммоль/кг. На 21-у добу тварин декапітували з використанням анестезії хлороформом, видаляли та зважували пухлину та досліджували вміст гістидину у плазмі крові та еритроцитах після гемолізу за [11]. Гемоліз проводили наступним чином. Для осадження білків готували гемолізат у розведенні 1 : 10 (на 1 мл проби брали 0,1 мл крові, 0,9 мл дистильованої води) та додавали 50 %-ний розчин сульфасаліцилової кислоти у розрахунку 10 % від об'єму проби. Перемішували та центрифугували протягом 20 хвилин при 2000 об./хв. Для дослідження відбирали супернатант. Для очищення від сумішей білків, ліпідів, тощо зразок пропускали через іонообмінну колонку.

Дослідні тварини були поділені на групи по 15 щурів у кожній: № 1 – здорові інтактні щури (контроль); № 2 – щури з карциномою Герена T_8 (пухлина); № 3 – щури з карциномою Герена T_8 , яким вводили цисплатин (цис-*Pt*); № 4 – щури з карциномою Герена T_8 , яким вводили *Re 1*; № 5 – щури з карциномою Герена T_8 , яким вводили *Re 2*.

Результати та їх обговорення

У нормі концентрація вільного гістидину в плазмі крові щурів складала 0,41 мкг/мл (рис. 1). При розвитку карциноми Герена T_8 відбувалося підвищення кількості *His* майже на 50 %.

Це явище підтверджує літературні дані [1] про підвищення рівня вільного гістидину у плазмі крові при розвитку різноманітних патологій. Також це може бути

пояснено прискоренням катаболічних процесів, що відбуваються під впливом розвитку новоутворення. Скоріше за все вільний *His* з'являється у значних кількостях внаслідок виходу гемоглобіну та його руйнування.

При введенні такого відомого протипухлинного препарату, як цисплатин, незважаючи на зниження швидкості росту пухлини, значних змін у концентрації *His* не спостерігали. Цей факт вказує на те, що цисPt у даній моделі поводить як прооксидант, тобто по відношенню до еритроцитів виявляє руйнівну якість. Отже, гальмування росту пухлини за допомогою металорганічних сполук потребує застосування додаткових засобів стабілізації еритропоезу.

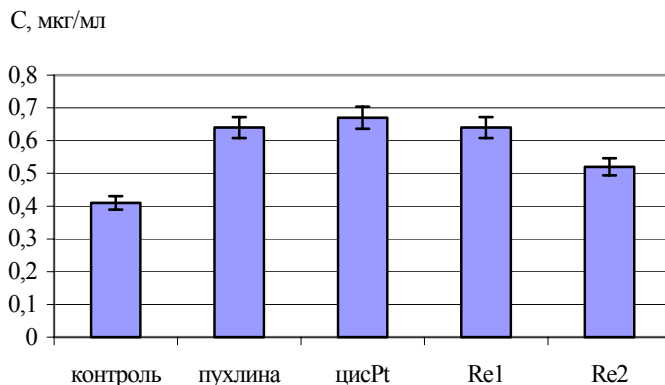


Рис. 1. Вміст вільного гістидину в плазмі крові щурів

Як показано у наших попередніх роботах [18], застосування кластерних сполук ренію (*III*) з органічними лігандами призводить до підвищення стабілізації еритроцитів поряд із зміною динаміки росту пухлини. При цьому сполуки ренію проявляли меншу протипухлинну активність, ніж цисPt. При застосуванні *Re1* у даному експерименті відбувалося незначне зменшення концентрації вільного *His*. У той же час, застосування сполуки *Re2* призводило майже до 20 % зниження вмісту амінокислоти. Цей факт підтверджує цитостабілізаційну активність кластерних сполук, що проявляється також у моделі канцерогенезу.

Отже, стабілізаційні властивості кластерних сполук ренію *in vivo* залежать від структури радикалів, а не тільки від наявності кластерного фрагмента. Отримані дані щодо вмісту вільного *His* в еритроцитах крові щурів подано на рис. 2.

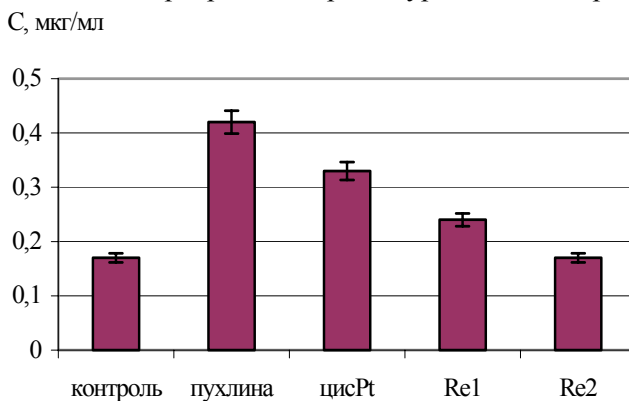


Рис. 2. Вміст вільного гістидину в еритроцитах крові щурів

Уперше встановлено, що в нормі концентрація вільного *His* в еритроцитах складає 0,18 мкг/мл, що вдвічі більше, ніж у плазмі. При розвитку карциноми Герена

T₈ відбувається збільшення концентрації цієї амінокислоти на 60 %. Цей факт може бути поясненим тими самими причинами, що і підвищення вмісту амінокислот у плазмі. При введенні цисPt відбувається зменшення кількості вільного *His* на 30%. Тобто, внутрішньоеритроцитарний пул амінокислоти виявляється більш чутливим до факторів патогенезу та їх корекції.

При застосуванні сполуки *Re1* спостерігалось зменшення концентрації *His* на 45 %, а при введенні сполуки *Re2* рівень дослідної амінокислоти в еритроцитах дорівнює нормі, що підтверджує вищевисловлені припущення. Виходячи з даних таблиці, можливо обговорювати співвідношення клітинного та позаклітинного пулу вільного *His*.

Таблиця

Вміст вільного *His* у плазмі та еритроцитах крові щурів, мкг/мл

	Норма	Пухлина	ЦисPt	<i>Re1</i>	<i>Re2</i>
Плазма	0,41	0,64	0,68	0,62	0,51
Еритроцити	0,18	0,42	0,32	0,23	0,18

У нормі співвідношення «плазма : клітина» дорівнює 2 : 1. При розвитку канцерогенезу відбувається зменшення співвідношення до 1,5 : 1, під впливом цисPt – 2 : 1, при застосуванні *Re1* і *Re2* – 3 : 1, що може свідчити про інтенсифікацію використання вільного *His* для синтезу гемоглобіну.

Заключення

Розвиток пухлини призводить до інтенсифікації деструктивних процесів, які стосуються гістидин-вмісних білків як усього організму, так і еритроцитарних. У останньому випадку цей процес відбувається набагато інтенсивніше. Застосування цисPt уповільнює ріст пухлини, проте призводить до додаткового збільшення *His* плазми (деструктивні процеси на рівні всього організму), проте загальний поліпшений стан відображується у частковій стабілізації клітин крові.

Застосування кластерних сполук ренію (*III*) з органічними лігандами, що є слабкими канцеростатиками, свідчить про їх значну стабілізаційну роль, яка залежить від гідрофобності радикала: адамантановий радикал (*Re2*) набагато гідрофобніший за тетраізобутиратний (*Re1*). Стабілізація внутрішньоклітинного пулу *Re2* практично до норми в моделі канцерогенезу свідчить про перспективи застосування цієї сполуки в медицині. Визначення кількості вільного гістидину еритроцитів може бути рекомендованим для подальших досліджень як чутливий показник розвитку новоутворень та ступеня корекції стану організму.

Бібліографічні посилання

1. **Амінокислоти в медицине** / В. И. Западнюк, Л. П. Купраш, М. И. Заика и др. – К.: Здоровье, 1982. – 199 с.
2. **Антигемолітична активність** кластерних комплексів ренію з органічними лігандами / Н. І. Штеменко, С. А. Олійник, О. В. Штеменко та ін. // Доповіді НАНУ. – 2001. – № 6. – С. 194–196.
3. **Асатиани В. С.** Химия крови. – М.: Знание, 1961. – 264 с.
4. **Дослідження взаємодії** кластерної сполуки ренію з еритроцитами людини / Н. І. Штеменко, О. Д. Жабицька, О. О. Сорочан та ін. // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – 2003. – Вип. 11, т. 2. – С. 214–218.
5. **Запороженко Б. С.** Изменение уровня свободных аминокислот в плазме крови больных острым панкреатитом и их коррекция с помощью раннего парентерального питания / Б. С. Запороженко, В. И. Шишлов // Клінічна хірургія. – 2000. – № 1. – С. 13–15.

6. **Изучение состава свободных аминокислот** крови здоровых и больных анемией людей / Е. Д. Жабицкая, Н. И. Штеменко, А. А. Пупченко, О. А. Сорочан // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – 2002. – Т. 10.
7. **Коломоєц М. Ю.** Аминокислотный состав сыворотки крови и слизистой оболочки желудка при язвенной болезни с поражением гепатобилиарной системы кишок у больных различного возраста // Лікарська справа. – 1994. – № 2. – С. 29–33.
8. **Маслакова Н. Д.** Аминокислотный фонд у больных с обтурационной желтухой до и после оперативного устранения препятствий оттоку желчи / Н. Д. Маслакова, Л. И. Нефедов // Клінічна хірургія. – 1994. – № 5. – С. 42–45.
9. **Нефедов Л. И.** Содержание свободных аминокислот в печени крыс после паритетального введения *KoA* / Л. И. Нефедов, Н. Д. Маслакова // Хіміко-фармацевтичний журнал. – 1992. – Т. 26, № 4. – Р. 31–34.
10. **Николаев А. Я.** Биологическая химия. – М: Высшая школа, 1989. – 495 с.
11. **Практическая химия белка** / Под ред. А. Дарбре. – М.: Мир, 1989. – 623 с.
12. **Brennan V. L.** Amino acid and protein oxidation in cardiovascular disease / V. L. Brennan, S. L. Hazen // Amino Acids. – 2003. – Vol. 25. – P. 365–374.
13. **Itzecka J.** Plasma amino acids concentration in amyotrophic lateral sclerosis patients / J. Itzecka, Z. Stelmasiak // Amino Acids. – 2003. – Vol. 25. – P. 69–73.
14. **Preservation** of amino acids during long term ischemia and subsequent reflow with supplementation of *L*-arginine, the nitric oxide precursor, in the rat heart / M. Desrois, M. Sciaky, C. Lan et al. // Amino Acids. – 2003. – Vol. 24. – P. 141–148.
15. **Rausser W. C.** Phytochelatins // Ann. Rev. Biochem. – 1990. – Vol. 59. – P. 61–86.
16. **Stadtman E. R.** Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins / E. R. Stadtman, R. L. Levine // Amino Acids. – 2003. – Vol. 25. – P. 207–218.
17. **Taylor S. K.** Erythropoietine (Erh-ipo) more than treatment of anemia in cancer and hemotherapy? // Medical Hypothesis. – 2003. – Vol. 60, N 1. – P. 89–93.

Надійшла до редколегії 02.11.05.

УДК 597.554.3–115.13

И. А. Столбунов

Институт биологии внутренних вод РАН

ВНУТРИПОПУЛЯЦИОННЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ПЛОТВЫ *RUTILUS RUTILUS*

Виявлено явище зміщення морфологічних ознак і параметрів плітки звичайної *Rutilus rutilus* (Linnaeus, 1758), що поширена у прибережній та відкритій глибоководній зонах Рибінського водосховища. Це явище носить адаптивний характер і дозволяє популяції більш ефективно використовувати середовище. Розглянуто вплив спадковості та екологічних чинників на утворення внутрішньопопуляційних форм.

The phenomenon of shift of morphological features and parameters of the roach *Rutilus rutilus* (Linnaeus, 1758) dwelling in littoral and pelagic areas of the Rybinsk reservoir are marked. The given phenomenon has adaptive character and allows to utilize of the environment more effectively and to master existing spatial and temporal subniches with alternative resources perfectly. Influence of non-ecological (inherited) differences and ecological factors on differentiation of fishes on various intrapopulation forms is considered.

Введение

Изучение механизмов формирования внутрипопуляционных экологических групп (или экологических форм) является важным направлением исследований в рамках фундаментальной проблемы сохранения биологического разнообразия, про-

© Столбунов И. А., 2005

183