

С.В. ІВАСІВКА, М.М КОВБАСНЮК

РОЗГОРТАННЯ ЗАГАЛЬНОЇ АДАПТАЦІЙНОЇ РЕАКЦІЇ ПІД ВПЛИВОМ ВОДИ НАФТУСЯ ЯК МЕХАНІЗМ ГАЛЬМУВАННЯ РОСТУ КАРЦИНОМИ ГЕРЕНА У ЩУРІВ

Органические вещества-ксенобиотики воды Нафтуса, запуская развёртывание общей адаптационной реакции организма, обеспечивают согласование структурных и функциональных изменений, что позволяет организму эффективно препятствовать опухолевому росту.

ВСТУП

Експериментально доказано, що органічні речовини-ксенобіотики води Нафтуса запускають розгортання загальної адаптаційної реакції при тривалому ритмічному надходженні цієї води в організм [15, 16].

Вже перший контакт мінеральної води з щлунково-кишковим трактом зумовлює вивільнення гастро-інтестинальних гормонів та збільшення чисельності ендокриноцитів в антрумі і 12-палій кишці [10, 11, 12], активує сукцинатдегідрогеназу парієтальних клітин [40], змінює спектр низькомолекулярних регуляторів гідролітичних ферментів ентероцитів [21], збільшує масу тонкого кишечника, що розцінюється як місцева адаптаційна реакція.

Всмоктавшись в кров, гідрофобні органічні речовини Нафтусі є потенційними індукторами мікросомальних монооксигеназ печінки, селезінки, мікро- і макрофагів, ендотеліоцитів, тоді як гідрофільні органічні речовини активують секреторно-транспортну систему нирок [14]. Стимуляція виведення з організму як самих органічних речовин Нафтусі, так і інших ксенобіотиків та ендогенних метаболітів (калію, кальцію, магнію, сечовини і уратів із сечею, білірубину і холатів – з жовчю) підвищує антиоксидантну резистентність організму, що є підґрунтям гепатопротекторної і радіопротекторної дії води Нафтуса [13, 22].

Встановлено, що вода Нафтуса гальмує переокислення ліпідів в нормі [28] і при радіаційному опроміненні [23]. Присутні в Нафтусі низькотоксичні природні феноли [17], а також їх мікросомальні метаболіти можуть бути потенційними антиоксидантами, здатними стабілізувати клітинні мембрани [35], а отже, нівелювати руйнівну дію будь-яких чужорідних агентів. Відомо, що інгібітор ПОЛ, синтетичний аналог α -токоферолу – іонол, стабілізуючи клітинні мембрани, в певній мірі, протидіє приживленню перевивних пухлин [6].

Водночас, індукція мікросомальних монооксигеназ гідрофобними органічними речовинами Нафтусі [15] може сприяти активації імунної системи організму, що узгоджується з концепцією про їх еволюційну і функціональну єдність. Саме в мікросомах низькомолекулярні ксенобіотики-гаптени, зв'язуючись з альбуміном, здатні набувати імуногенних властивостей та індукувати синтез антитіл. Інтенсивність цього процесу визначається співвідношенням вихідних гідрофобних органічних сполук, що підлягають окисленню за участю цит. P₄₅₀, їх активних мікросомальних метаболітів, а також селекцією ізоформ ензиму, які найадекватніше взаємодіють з ксенобіотиками впродовж їх хронічного поступлення в організм [8].

Гідрофільні органічні сполуки Нафтусі, індуктори секреторного транспорту в проксимальних каналцях нирок, також можуть бути активаторами системи імунітету і неспецифічного захисту. Відомо, що антиметастанні властивості водорозчинних сполук прополісу [46] зумовлені активацією перитоніальних макрофагів, реакції лімфоцитів на мітогени, збільшенням ваги і клітинності селезінки.

Школою Р.С. Кавецького доказано [24, 25], що злоякісний ріст є дистрофічно-проліферативною реакцією всього організму на глибинні неадекватні зміни процесів обміну речовин, котрі, спотворюючи диференціацію, спеціалізацію і кооперацію новоутворених клітин, зумовлюють зниження загальної опірності організму до агресивної дії будь-яких факторів.

Через те ліквідація імунної депресії і активація неспецифічної резистентності організму залишається базовим механізмом підвищення його протипухлинної резистентності [3, 5, 32, 38]. Пошук різноманітних біологічних, хімічних і синтетичних адаптогенів триває [4, 9].

Вище викладене засвідчує, що вода Нафтуса може посісти серед них своє місце.

Нашою метою було вивчити розгортання загальної адаптаційної реакції, індукованої водою Нафтуса, у щурів з карциномою Герена, та її роль в гальмуванні росту цієї пухлини.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проведені на щурах-самках лінії Вістар масою тіла (м.т.) 180-220 г.

Штам карциноми Герена отриманий із Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України.

Карциному Герена (0,5 мл 10%-ої суспензії) прищеплювали за стерильних умов підшкірно, з правого боку, між передньою і задньою лапками. Через добу після прищеплення пухлини тварин поділяли на контрольну і 2 дослідні групи. Контрольних щурів утримували на стандартній дієті віварія і вільному доступі до водопровідної води, впродовж 14 днів. Щурів 1-ої дослідної групи, за аналогічних умов, поїли водою Нафтуса, при допомозі зонду, в дозі 1,5 % м.т., щоденно (ритмічне поїння). Щурі 2-ої дослідної групи отримували Нафтусю довільно, з поїлок, за відсутності водопровідної води в раціоні.

Скорочення латентного періоду до одної доби, між прищепленням пухлини і початком поїння водою Нафтуса, забезпечує оптимальні умови для проявлення як деструктивної дії неопластичного процесу, так і адаптогенної дії води Нафтуса.

Онкопротекторну дію води Нафтуса досліджували у щурів 3-ої дослідної групи, котрих поїли цією водою, в дозі 1,5 % м.т. щоденно, 21 день до прищеплення пухлини і 14 днів після.

Інтактні щурі служили додатковим контролем.

Після завершення поїння у всіх щурів визначали вміст гемоглобіну, підраховували чисельність еритроцитів і лейкоцитів периферійної крові, парціальну лейкограму та вміст великих гранулярних лімфоцитів – маркерів неспецифічної протипухлинної резистентності організму [27].

Активність секреторного транспорту в нирках оцінювали згідно відносною (%) секретії фенолроту, використовуючи властивість барвника вибірково поглинати видиме світло довжиною 540-580 нм у лужному середовищі [2]. Фенолрот (0,35 мг/кг) вводили щурам внутрішньоочеревинно, у формі 0,01 %-го розчину, зразу ж після перорального навантаження тварин водопровідною водою (2 % м.т.). Тривалість збору сечі – 1 год. Стандартні розчини фенолроту (5, 10 і 20 мг/л) готували із вихідного 0,01 %-го розчину, котрий вводили щурам. Проби сечі попередньо центрифугували при 3 000 об/хв, впродовж 5 хв. Стандартні розчини фенолроту і супернатант сечі змішували із 1 N розчином NaOH у співвідношенні 1: 5. Стійкість забарвлення контролювали спектрофотометрично, для чого через 10 хв для всіх стандартних розчинів і однієї із проб реєстрували суцільний спектр поглинання на спектрофотометрі Specord UV VIS (ФРН). Діапазон поглинання (540-580 нм) і максимум поглинання (560 нм) узгоджувалися з літературними даними [1]. Оптичну щільність вимірювали фотоколориметрично, при зеленому світлофільтрі (540 нм).

Активність діурезу виражали у відсотках (%) від загальної кількості введеної рідини.

В подальшому тварин декапітували.

Кров забирали на 4 %-ий лимоннокислий натрій, центрифугували при 1500 об/хв впродовж 10 хв, для отримання фракції лейкоцитів.

Активність фагоцитозу досліджували шляхом інкубації фракції лейкоцитів з *St. Aureus*. В середовище інкубації паралельної проби вносили 0,05 мл циклофосфану (ЦФ - 10^{-5} М/л) – цитостатика, що активується мікросомальними монооксигеназами [39], для оцінки їх внеску в активацію фагоцитозу.

Визначали масу пухлини, а також масу тимуса, селезінки, наднирників (індикатори імуногенезу, адаптації, стресу) [6]. В сироватці крові визначали активність гамма-глутамілтранспептидази (ГГТП), кислій фосфатази і лужної фосфатази.

Отримані результати опрацьовували статистично [31].

ОТРИМАНІ РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Згідно отриманих результатів, 14-денне ритмічне, як і довільне поїння щурів-пухлиноносців водою Нафтуса, розпочате через добу після прищеплення карциноми Герена, а також 21-денне превентивне поїння до прищеплення і подальше 14-денне поїння після прищеплення цієї пухлини, вірогідно ($p < 0,05$) гальмує ріст карциноми Герена (рис. 1).

Встановлено, що активація секреторно-транспортної системи нирок, оцінена згідно інтенсивності секреції фенолроту (рис. 2), присутня у всіх пухлиноносіїв. Зокрема, 2-кратне ($p < 0,01$) підсилення секреції фенолроту, стосовно інтактних щурів, зареєстроване у контрольних пухлиноносіїв. У дослідних пухлиноносіїв, що ритмічно або довільно пили Нафтусю зразу ж після прищеплення карциноми Герена, секреція фенолроту зросла в 1,6 р. ($p < 0,05$). У групі пухлиноносіїв, що превентивно 21 день отримували Нафтусю до прищеплення карциноми Герена, інтенсивність секреції фенолроту зросла максимально – в 2,4 р. ($p < 0,001$).

Гальмування росту карциноми Герена

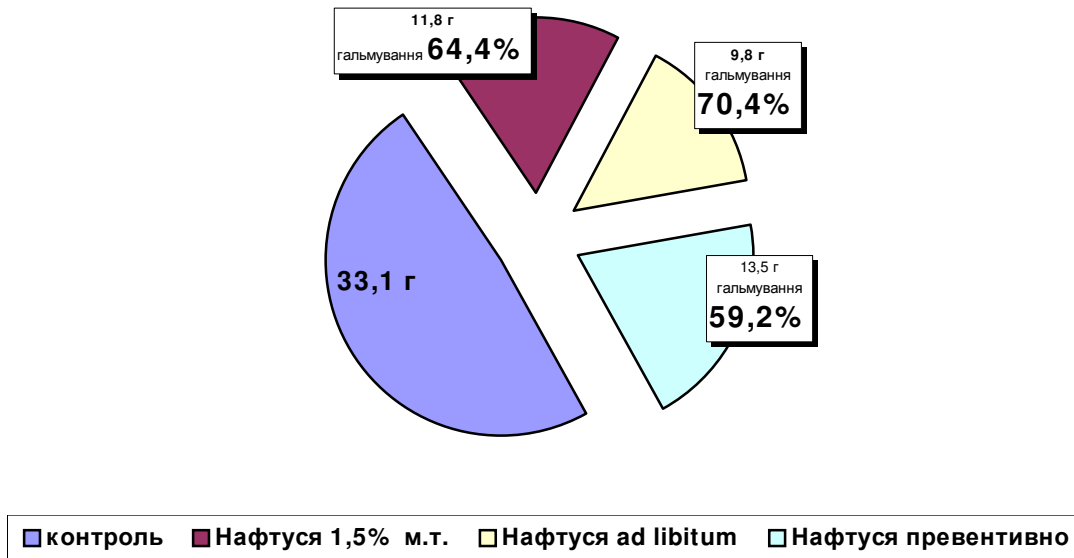


Рис. 1. Гальмування росту карциноми Герена під впливом води Нафтуся

Взаємозв'язок детоксикаційної функції нирок і червоної крові у щурів з карциною Герена

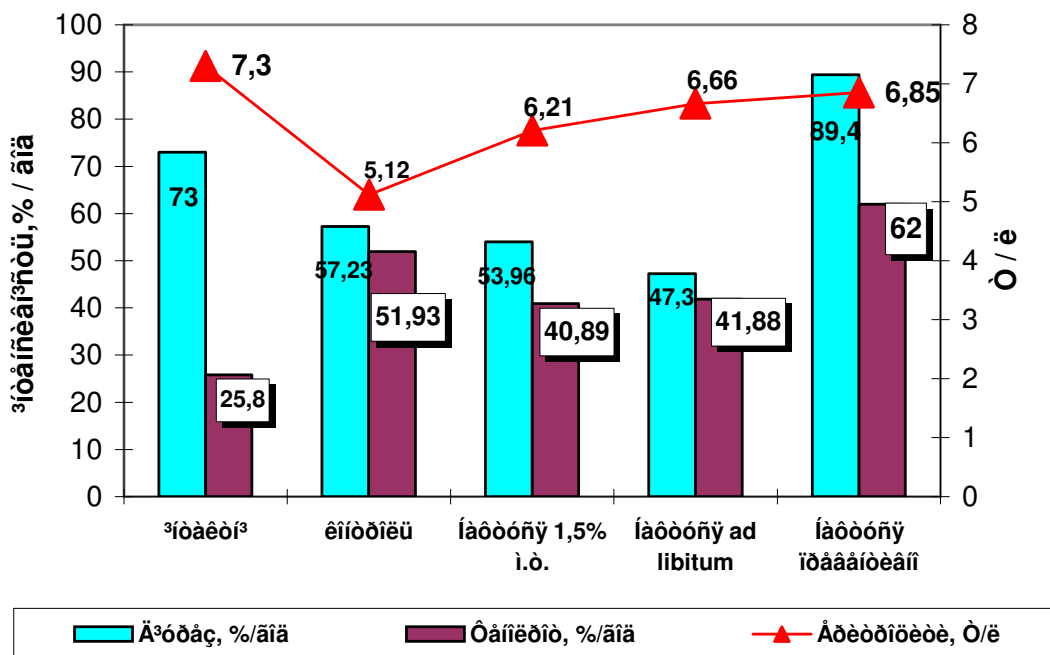


Рис. 2. Вплив води Нафтуся на взаємозв'язок детоксикаційної функції нирок і червоної крові у щурів з карциною Герена

Водночас, інтенсифікація виведення цього барвника у контрольних щурів супроводжується чіткою вірогідною ($p < 0,05$) еритропенією, тоді як активація секреторного транспорту в нирках, спричинена ритмічним і довільним поїнням щурів Нафтусею, розпочатим зразу ж після прищеплення карциноми Герена, супроводжується збереженням чисельності еритроцитів у нижній межі норми, а 21-денне превентивне поїння щурів Нафтусею, до прищеплення пухлини, найкраще нормалізує їх вміст (рис. 2).

Відомо [37], що ефективний еритропоез, а отже, і чисельність еритроцитів периферійної крові, є маркером детоксикаційної функції нирок. Оскільки у контрольній групі активація секреції фенолроту зумовлена виключно ендogenousними індукторами, правомірно дійти висновку, що потужності секреторного транспорту в нирках при неопластичних процесах є обмеженими і неадекватними щодо потреб організму.

Навпаки, у всіх дослідних групах, в якості індуктора підключаються гідрофільні органічні речовини Нафтусі, і їх роль є вирішальною в пришвидшенні очищення організму пухлиноносіїв від продуктів катаболізму, що підтверджується позитивними змінами в системі червоної крові. Металорганічні комплекси міді і марганцю, присутні в Нафтусі [18], також можуть сприяти активації еритропоезу [45].

Вміст гемоглобіну синхронізований з чисельністю еритроцитів. У інтактних щурів – 116 г/л, у контрольних пухлиноносіїв знижений до 106,7 г/л, у дослідних пухлиноносіїв, що ритмічно, або довільно пили воду Нафтуса – 109 і 114 г/л, відповідно. Превентивне поїння щурів водою Нафтуса, до прищеплення пухлини, забезпечує тенденцію до приросту вмісту гемоглобіну – 124 г/л.

Відомо, що цит. P_{450} сконцентрований в 12-палій кишці [44], а індуктор цит. P_{450} фенобарбітал стимулює всмоктування заліза в 12-палій кишці і його засвоєння на синтез гемоглобіну [47]. Встановлена нами морфо-функціональна активація еритроцитів [10, 11, 21, 40] дозволяє дійти висновку, що гідрофобні органічні речовини води Нафтуса, як потенційні індуктори мікросомальних монооксигеназ, також здатні стимулювати засвоєння харчового заліза на синтез еритроцитарного пігмента.

Таким чином, стимуляція еритропоезу водою Нафтуса у щурів з карциномою Герена є складовою загальної адаптаційної реакції, що узгоджується з нашими попередніми дослідженнями [19].

Варте уваги, що у контрольних пухлиноносіїв, а також у пухлиноносіїв, що почали пити Нафтусю зразу ж після прищеплення карциноми Герена, ритмічно або довільно, відчутно знижена інтенсивність форсованого діурезу, тоді як 21-денне превентивне поїння щурів Нафтусею, перед прищепленням пухлини, навпаки, забезпечує тенденцію до його приросту (рис. 2). Оскільки інтенсивність виведення рідини з організму визначається, перш за все, інтенсивністю фільтрації, отримані дані дозволяють припустити, що тривалість і спосіб вживання Нафтусі щурами-пухлиноносіями чинить неоднозначну дію на їх гломерулярний апарат.

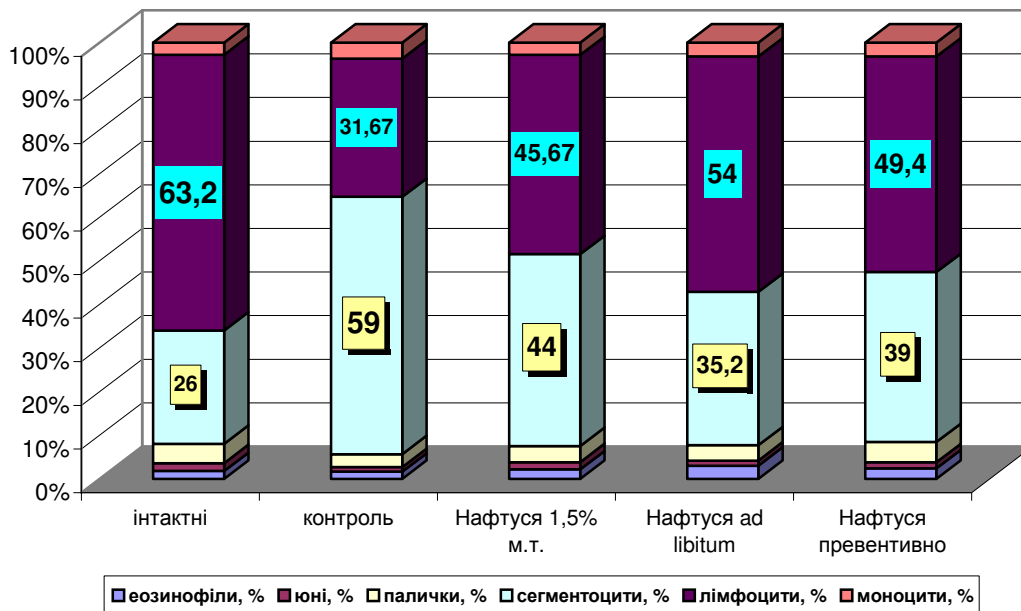
Відомо [34], що мезангіальні клітини, як складові гломерул, здатні суттєво модулювати інтенсивність фільтраційних процесів. Їх активація супроводжується синтезом колагену, а отже, зменшенням фільтраційної потужності гломерул. Потенційними активаторами мезангіальних клітин, як представників макрофагічної системи організму, можуть бути ендотоксини, а також гідрофобні ксенобіотики. Правомірно припустити, що продукти розпаду пухлинної тканини достатньою мірою активують мезангіальні клітини у контрольних пухлиноносіїв, що сповільнює діурез. Гідрофобні органічні речовини Нафтусі можуть бути додатковими активаторами мезангіальних клітин у пухлиноносіїв, що почали пити мінеральну воду зразу ж після прищеплення карциноми Герена, що, мабуть, спричинює мінімальний діурез у цих дослідних групах.

Навпаки, 21-денне ритмічне поїння щурів Нафтусею, перед прищепленням карциноми Герена, максимально індукуює мікросомальні монооксигенази [14, 15], а отже, забезпечує ефективне окислення гідробних органічних речовин Нафтусі до гідрофільних метаболітів, котрі, в свою чергу, також активують секреторний транспорт в проксимальних каналцях нефрону. Тобто, в організмі щурів цієї дослідної групи, до і після прищеплення карциноми Герена, домінують гідрофільні індуктори секреторного транспорту в нирках, що нормалізує всі ланки діурезу.

Зміни в системі білої крові зображені на рис. 3. Лейкоцитоз всіх без винятку пухлиноносіїв є базовою захисною реакцією при пухлинному рості [24, 25, 38]. Проте, максимальне, в 3,7 р., збільшення чисельності лейкоцитів в контрольних щурів зумовлене, перш за все, 8-кратним приростом чисельності нейтрофілів, що змінює профіль крові цих тварин.

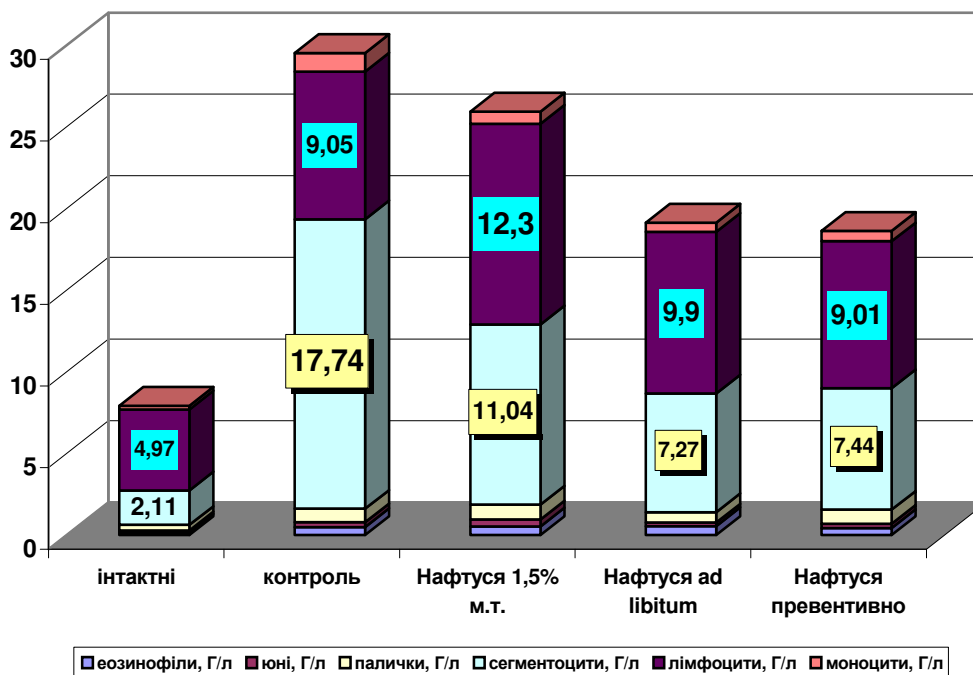
Навпаки, у всіх дослідних пухлиноносіїв, що пили Нафтусю за різними схемами, зберігається лімфоцитарний профіль крові, властивий інтактним щурам. При цьому, 14-денне ритмічне поїння щурів Нафтусю, розпочате зразу ж після прищеплення карциноми Герена, забезпечує 3-кратний приріст загальної чисельності лейкоцитів, при мінімальній перевазі відносного і абсолютного числа лімфоцитів над сегментоцитами. Натомість, у щурів, що довільно пили Нафтусю, а також у щурів, котрих превентивно поїли Нафтусю, впродовж 21-го дня, до прищеплення пухлини, спостерігається лише 2-кратний приріст загальної чисельності лейкоцитів, однак, перевага відносного і абсолютного числа лімфоцитів над сегментоцитами є суттєвою.

Формула крові



а

Чисельність популяцій, Г/л

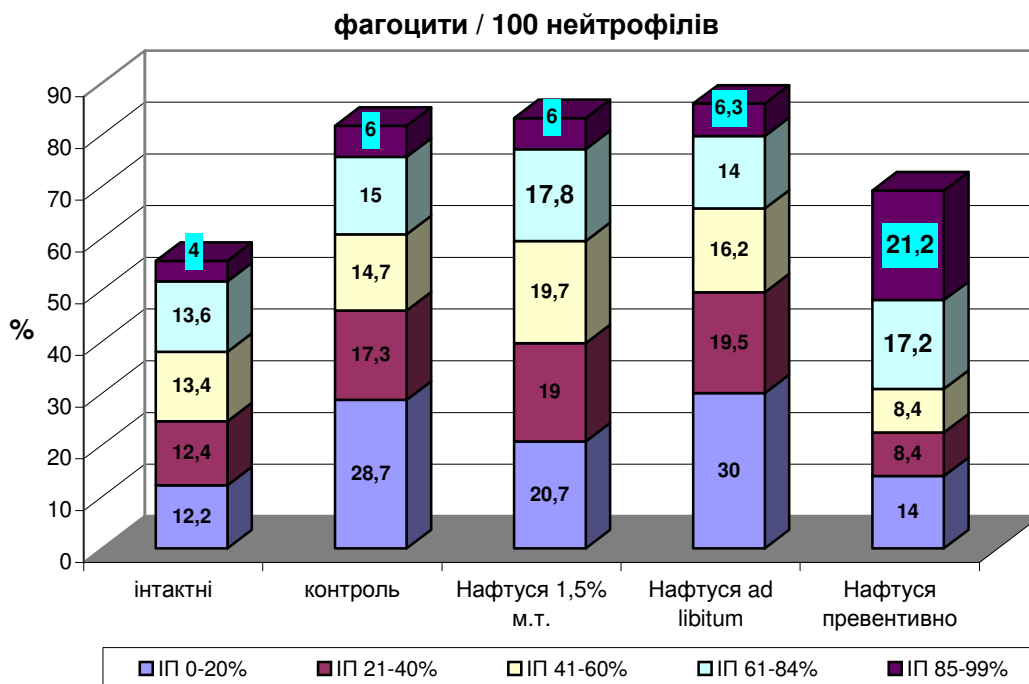


б

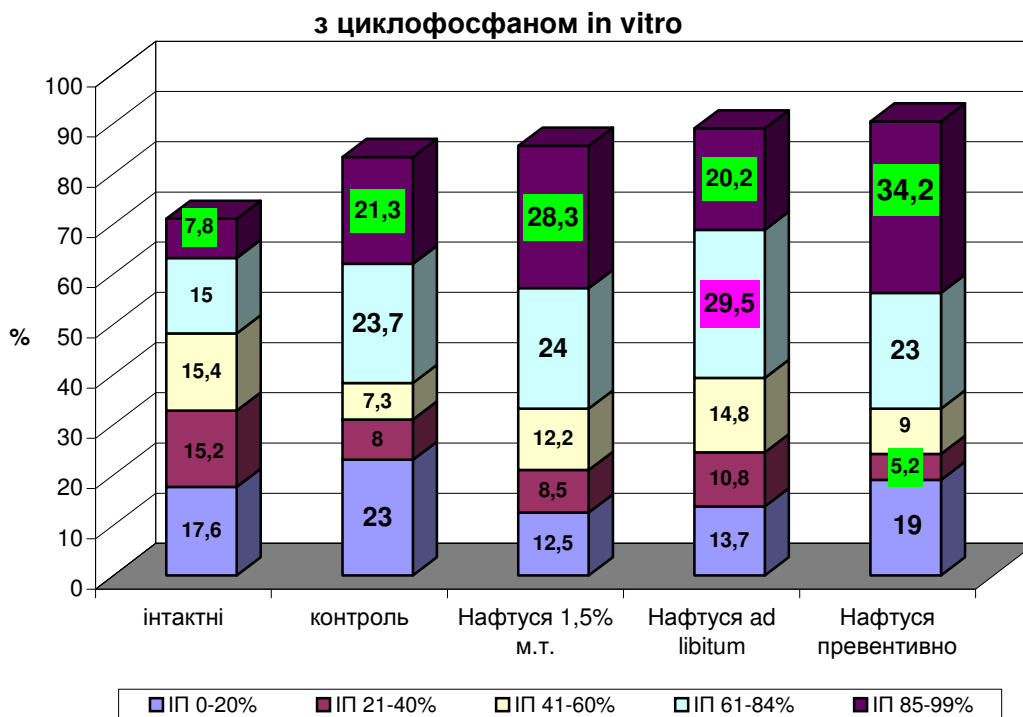
Рис. 3. Вплив води Нафтуса на відносний (а) і абсолютний (б) вміст популяцій лейкоцитів у щурів з карциною Герена.

Водночас, у всіх дослідних пухлиноносіїв спостерігається тенденція до збільшення чисельності міелокаріоцитів (табл. 1).

Таким чином, правомірно дійти висновку, що Нафтуса нормалізує лейкопоз при пухлинному рості, що традиційно для цієї мінеральної води [29, 30].



а



б

Рис. 4. Вплив води Нафтуса на фагоцитарну активність нейтрофілів щурів з карциномою Герена за стандартних умов (а) і при інкубації з циклофосфаном in vitro (б).

Фагоцитарна активність нейтрофілів – важлива ланка неспецифічної опірності організму до всіх чужорідних агентів, зокрема, перевивних пухлин.

Підрахунок числа фагоцитів (n) на 100 нейтрофілів засвідчив, що у інтактних щурів фагоцити (54±3) рівномірно розподілені серед популяцій з дуже низьким (0-20%), низьким (21-40%), середнім (41-60%) і високим (61-84%) індексом перетравлення (ІП), тоді як популяція з дуже високим (85-99%) ІП є мінімальною (рис. 4а). У контрольних пухлиноносіїв чисельність фагоцитів (82±1) зросла в 1,5 р. (p<0,05) стосовно інтактних щурів, насамперед, за рахунок збільшення в 2,4 р. популяції з дуже низьким (0-20%) ІП. У пухлиноносіїв 1-ої дослідної групи, що ритмічно пили воду Нафтуса, впродовж 14 днів, зразу ж після прищеплення карциноми Герена, темп приросту числа фагоцитів (83±3) аналогічний, проте домінують популяції з дуже низьким (0-20%), низьким (21-40%) і середнім (41-60%) ІП. Їх чисельність зросла в 1,5-1,7 р. стосовно відповідних величин у інтактних щурів. У пухлиноносіїв 2-ої дослідної групи, що довільно пили воду Нафтуса, впродовж такого ж терміну, чисельність фагоцитів (86±3) зросла в 1,6 р. (p<0,05) стосовно інтактних щурів, за рахунок приросту популяцій з дуже низьким (0-20%) і низьким (21-40%) ІП, відповідно, в 2,5 і 1,5 р.

Навпаки, превентивне поїння щурів Нафтусею, 21 день до прищеплення і 14 днів після прищеплення карциноми Герена, супроводжується мінімальним (в 1,3 р.), хоча і вірогідним (p<0,05) приростом числа фагоцитів (70±5), проте докорінно змінює їх перерозподіл серед досліджуваних популяцій (рис. 4а). У пухлиноносіїв цієї дослідної групи домінують фагоцити з дуже високим (85-99%) ІП. Їх чисельність зросла в 5 р. стосовно інтактних щурів. Разом з тим, популяції з середнім (41-60%) і низьким (21-40%) ІП зменшилися в 1,6 р. і 1,5 р., відповідно.

Середня чисельність поглинутих мікробів одним фагоцитом у всіх пухлиноносіїв та інтактних тварин однакова (15,2-17,0).

Встановлено, що інкубація суспензії лейкоцитів інтактних щурів з циклофосфаном (ЦФ) – цитостатиком, що активується мікосомальними монооксигеназами [39], збільшує чисельність фагоцитів (71±5) в 1,3 р. (p<0,05), за рахунок рівномірного приросту всіх популяцій (рис. 4б), тоді як інкубація з ЦФ суспензій лейкоцитів всіх пухлиноносіїв супроводжується не лише збільшенням загального числа фагоцитів, а і їх суттєвим перерозподілом між досліджуваними фракціями (там же).

Так, вже у контрольних щурів, незначний приріст загального числа фагоцитів (83±2), стосовно інтактних активованих, відбувається за рахунок 2-кратного приросту фагоцитів з дуже високим ІП (85-99%) і збільшенням в 1,3 р. фагоцитів з дуже низьким ІП (0-20%), при одночасному зменшенні в 2 р. фагоцитів з середнім ІП (41-60%) і низьким ІП (21-40%).

Аналогічний приріст загального числа фагоцитів (86±3) у щурів, що ритмічно пили Нафтусю, впродовж 14 днів після прищеплення карциноми Герена (1-а дослідна група), зумовлений збільшенням фагоцитів з дуже високим ІП (85-99%) в 3,6 р. і фагоцитів з високим ІП (61-84%) в 1,6 р., при супутньому зменшенні фагоцитів з низьким ІП (21-40%) в 1,8 р. У щурів, що довільно пили Нафтусю, впродовж 14 днів після прищеплення карциноми Герена (2-а дослідна група), домінують фагоцити з високим ІП (61-84%), чисельність фагоцитів з дуже високим ІП (85-99%) дещо нижча, а решта популяцій проявляють тенденцію до зниження (рис. 4б).

Інкубація з ЦФ суспензії лейкоцитів пухлиноносіїв, превентивно напоєних Нафтусею, забезпечує максимальний приріст загального числа фагоцитів (90,4±0,2), насамперед, за рахунок 4-кратного приросту фагоцитів з дуже високим ІП (85-99%) і збільшення фагоцитів з високим ІП (61-84%) в 1,5 р., на тлі 3-кратного зниження фагоцитів з низьким ІП (21-40%) і зменшення фагоцитів з середнім ІП (41-60%) в 1,7 р. Варте уваги, що лише в цій дослідній групі число мікробів, поглинутих одним фагоцитом, зросло в 1,3 р. стосовно інтактних, активованих ЦФ (22,82±0,84 проти 17,2±0,9, відповідно).

Підрахунок абсолютного числа фагоцитів (10⁹/л) у крові всіх щурів (рис. 5) підтверджує дослідження з ЦФ *in vitro*. А саме, максимальне число фагоцитів у контрольних щурів (14,56±3,42) зумовлене збільшенням фагоцитів з дуже низьким (0-20%) і низьким (21-40%) ІП, тоді як у щурів, превентивно поєних Нафтусею, домінують фагоцити з дуже високим ІП (85-99%).

Таким чином, вода Нафтуса забезпечує повноцінну активацію фагоцитозу, насамперед, його завершеності, у щурів з карциномою Герена, що проявляється з максимальною ефективністю при тривалому ритмічному надходженні води в організм - до і після прищеплення пухлини. Правомірно дійти висновку, що повному зниженню поглинутих мікроорганізмів може сприяти індукція мікосомальних монооксигеназ нейтрофілів гідрофобною органікою води Нафтуса, зокрема, поліциклічними ароматичними вуглеводнями [1].

Резервні потужності фагоцитозу, зумовлені індукцією мікросомальних монооксигеназ нейтрофілів органічними речовинами-ксенобіотиками води Нафтуса, підтверджені інкубацією фракції лейкоцитів пухлиноносіїв з ЦФ *in vitro*.

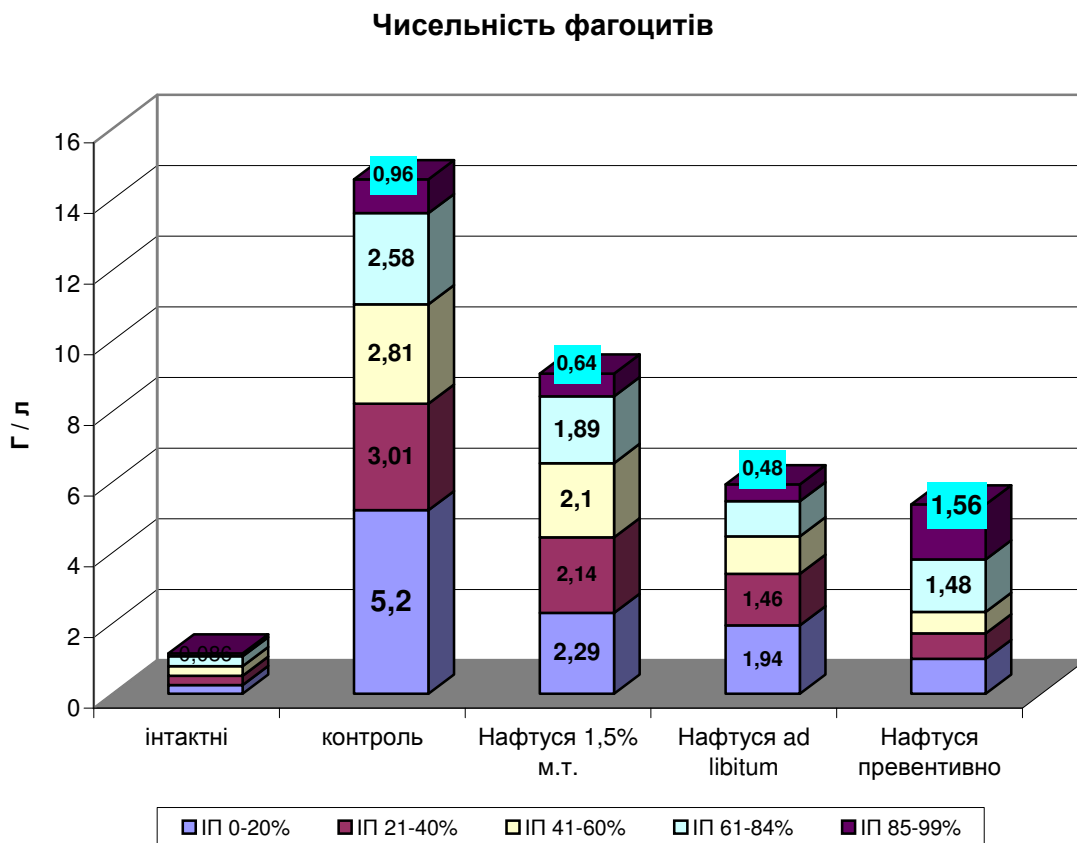


Рис. 5. Вплив води Нафтуса на вміст популяції фагоцитів з різними індексами перетравлення у щурів з карциномою Герена

У контрольних щурів ці потужності є мінімальними, оскільки індукція зумовлена виключно ендотоксинами. Натомість, поїння щурів Нафтусею, ритмічне і довільне, розпочате зразу ж після прищеплення карциноми Герена, забезпечує суттєве збільшення фагоцитів із завершеним фагоцитозом, тоді як завершеність фагоцитозу у щурів, превентивно поєних Нафтусею, є максимальною.

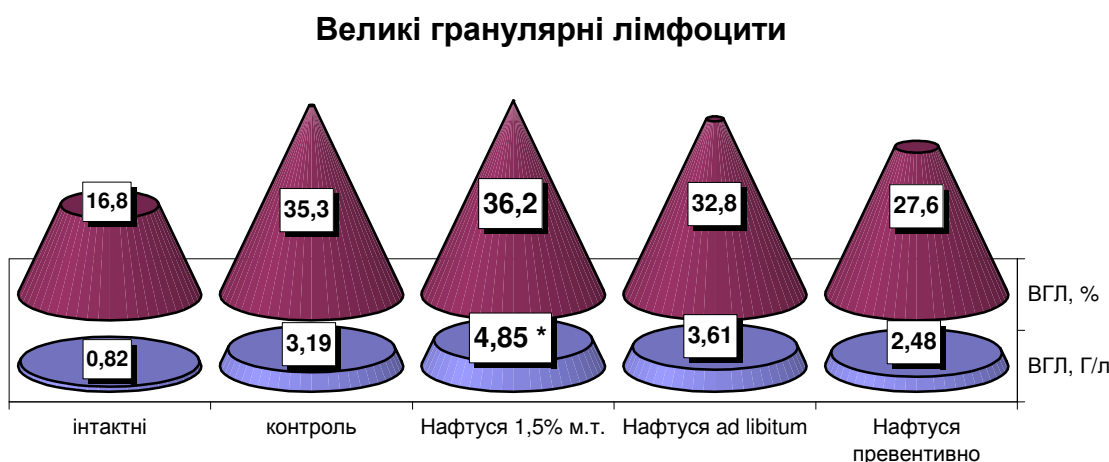


Рис. 6. Вплив води Нафтуса на вміст великих гранулярних лімфоцитів у щурів з карциномою Герена.

Великі гранулярні лімфоцити (ВГЛ) є представниками популяції натуральних кіллерів (НК), котрим не властива антигенна специфічність, завдяки чому НК здатні знешкоджувати будь-який чужорідний агент, що проник в організм. Встановлено, що в НК поліпептидний ланцюг рецептора інтерлейкіна-2, м. М. 75 кД, синтезується постійно, внаслідок чого цим клітинам властива миттєва відповідь при підвищенні концентрації згаданого цитокіна. Загально визнано, що НК є маркерами протипухлинної резистентності організму [26, 27, 38].

Підрахунок частки (%) ВГЛ на 100 лімфоцитів, як і абсолютного вмісту (10^9 /л), засвідчив вірогідне ($p < 0,05$) збільшення цієї популяції лімфоцитів у всіх пухлиноносіїв стосовно інтактних щурів (рис. 6). Максимальний приріст циркулюючих ВГЛ спостерігається у щурів, поєних Нафтусею в дозі 1,5% м.т. щоденно, впродовж 14 днів, зразу ж після прищеплення карциноми Герена, мінімальний – у щурів, превентивно поєних Нафтусею, до прищеплення пухлини. У контрольних щурів і пухлиноносіїв, що пили Нафтусею довільно, вміст ВГЛ ідентичний.

Таким чином, тривалість і спосіб вживання мінеральної води Нафтуса здатний модулювати неспецифічну протипухлинну резистентність лімфоїдного ряду білої крові.

Таблиця 1. Вплив води Нафтуса на органи імуногенезу у щурів з карциномою Герена

Показники	Інтактні	Контроль, 14 днів після прищеплення	Нафтуса, 1,5% м.т., 14 днів, зразу ж після прищеплення	Нафтуса ad libitum 14 днів, зразу ж після прищеплення	Нафтуса, 1,5% м.т., 21 день превентивно і 14 днів після прищеплення
Міелокаріоцити, 10^{12} /л	1,27 ± 0,06 (5)	1,20 ± 0,10 (5)	1,41 ± 0,09 (5)	1,98 ± 0,23 (4) *	1,37 ± 0,11 (5)
Тимус, % м.т.	0,08 ± 0,01 (5)	0,07 ± 0,01 (6)	0,08 ± 0,01 (5)	0,09 ± 0,01 (4)	0,09 ± 0,01 (5)
Селезінка, % м.т.	0,37 ± 0,02 (5)	0,85 ± 0,07 (6) ***	0,68 ± 0,07 (5) **	0,57 ± 0,09 (4) #	0,49 ± 0,04 (5) * #
Надпирники, % м.т.	0,023 ± 0,002 (5)	0,036 ± 0,003 (6) **	0,028 ± 0,003 (5)	0,028 ± 0,001 (4)	0,030 ± 0,001 (5) *

Примітка. Тут і в подальшому - *, **, *** - $p < 0,05$, 0,01 і 0,001 стосовно інтактних. # - $p < 0,05$ стосовно контролю.

Встановлено, що масова частка тимуса інтактних щурів і пухлиноносіїв ідентичні, тоді як масова частка селезінки специфічна для кожної групи тварин (табл. 1). Зокрема, максимальне збільшення селезінки в 2,3 р. характерне для контрольних пухлиноносіїв.

Нафтуса відчутно сповільнює темп приросту маси селезінки, а саме, її масова частка зросла в пухлиноносіїв, що ритмічно (1-а дослідна група) і довільно (2-а дослідна група) пили Нафтусею, зразу ж після прищеплення карциноми Герена, відповідно, в 1,8 і 1,5 р. Темп приросту селезінки у пухлиноносіїв, превентивно поєних Нафтусею, мінімальний – в 1,3 р.

Надпирники є менш чутливими до впливу Нафтусі. Їх масова частка зросла в 1,6 р. у контрольних пухлиноносіїв, і в 1,3 р. у щурів, превентивно поєних Нафтусею. У решти дослідних тварин масова частка надпирників співрозмірна з інтактними щурами.

Аналіз ферментативної активності сироватки крові (табл. 2) показав, що гамма-глутамілтрансептидаза (ГГТП) є найбільш чутливою до тривалості і способу вживання води Нафтуса. Активність цього фермента вірогідно знижена у всіх пухлиноносіїв, зокрема, у контрольних в 3 р. Вільне поїння щурів Нафтусею, зразу ж після прищеплення пухлини (2-а дослідна група), поглиблює дефіцит ГГТП в 4,2 р. Активність фермента є мінімальною у щурів, котрих ритмічно поїли Нафтусею, зразу ж після прищеплення карциноми Герена, впродовж 14 днів (1-а дослідна група), і превентивно 21 день до прищеплення (3-я дослідна група), відповідно, в 5,9 і 10,6 р.

Таблиця 2. Вплив води Нафтуса на ферментативну активність сироватки крові щурів з карциномою Герена

Показники	Інтактні	Контроль, 14 днів після прищеплення	Нафтуса, 1,5% м.т., 14 днів, зразу ж після прищеплення	Нафтуса ad libitum 14 днів, зразу ж після рищеплення	Нафтуса, 1,5% м.т., 21 день превентивно і 14 днів після прищеплення
ГГТП, мкМ /л	1,15 ± 0,03 (5)	0,382 ± 0,086 (6) ***	0,196 ± 0,070 (5) ***	0,274 ± 0,076 (4) ***	0,108 ± 0,038 (5) *** #
Кисла фосфатаза, мкМ /л	0,097 ± 0,003 (5)	0,192 ± 0,062 (6)	0,229 ± 0,049 (5) *	0,439 ± 0,102 (4) *	0,417 ± 0,049 (5) *** #
Лужна фосфатаза, мкМ /л	3,242 ± 0,085 (5)	5,387 ± 0,956 (6) *	9,182 ± 0,991 (5) *** #	6,471 ± 0,979 (4) *	9,007 ± 1,734 (5) **

ГГТП (К.Ф. 2.3.2.1) задіяна у другій стадії біотрансформації ксенобіотиків, оскільки каталізує кон'югацію глютамінового залишку глютатіону з мікросомальними метаболітами, що суттєво прискорює їх виведення з організму. ГГТП підлягає індукції фенобарбіталом, хіміопрепаратами, канцерогенними сполуками [36, 41]. Разом з тим, активність ферменту регулюється вмістом субстрату – глютатіону. Встановлено, що основна маса глютатіону сконцентрована в перипортальній ділянці печінкової дольки, де задіяна на утилізацію органічних перекисей, тоді як мікросомальне окислення домінує в перивенозній ділянці [7, 42, 43]. Інакше кажучи, фермент і субстрат, до деякої міри, розділені просторово, через що навіть за наявності індукторів мікросомальних монооксигеназ, активність ГГТП може бути зниженою.

Отримані нами дані активності ГГТП (табл. 2), індивідуальні для кожної дослідної групи, засвідчують, що органічні речовини-ксенобіотики води Нафтуса, індуючи мікросомальні монооксигенази, здатні регулювати інші метаболічні реакції, незалежно від їх просторової локалізації в печінковій дольці.

Кисла фосфатаза є маркерним ферментом лізосом лімфоцитів. Максимальна активність цього ферменту виявлена у щурів 2-ої дослідної групи, що довільно пили воду Нафтуса, зразу ж після прищеплення карциноми Герена, і у щурів 3-ої дослідної групи, що превентивно пили воду Нафтуса, до прищеплення пухлини (табл. 2). У щурів 1-ої дослідної групи, що ритмічно пили воду Нафтуса, зразу ж після прищеплення карциноми Герена, активність ферменту вдвічі нижча, ніж у двох попередніх дослідних групах, а в контрольних пухлиноносіїв спостерігається лише тенденція до росту його активності.

Лужна фосфатаза є маркерним ферментом сегментоядерних нейтрофілів, кубічного епітелію проксимальних каналців нефрону [33]. Встановлено (табл. 2), що ритмічне поїння пухлиноносіїв водою Нафтуса, як 14-денне, розпочате зразу ж після прищеплення карциноми Герена, так і 21-денне превентивне, забезпечує максимальний приріст активності цього ферменту в 2,8 р. 14-денне довільне пиття води Нафтуса, розпочате зразу ж після прищеплення карциноми Герена, супроводжується дещо нижчою активністю ферменту, тоді як у контрольних пухлиноносіїв приріст активності ферменту є мінімальним.

Підсумовуючи результати проведених досліджень, правомірно стверджувати, що організм контрольних щурів протидіє пухлинному росту, перш за все, за рахунок суттєвих морфологічних змін, таких як збільшення загальної чисельності лейкоцитів периферійної крові, серед котрих домінують сегментоядерні нейтрофіли з низьким індексом перетравлення поглинутих мікробів, а також максимального росту масової частки селезінки і наднирників. Метаболічні зсуви є мінімальними. Неадекватність морфологічних змін їх функціональному забезпеченню може бути вторинним деструктивним чинником, що послаблює протипухлинну резистентність організму.

Навпаки, мінеральна вода Нафтуса оптимізує морфологічну і метаболічну перебудову організму.

Зокрема, у пухлиноносіїв 3-х дослідних груп активується секреторно-транспортна система нирок, і як наслідок, чисельність еритроцитів периферійної крові зберігається в межах норми. Активація мікросомальних монооксигеназ ентероцитів гідрофобною органікою води Нафтуса забезпечує повноцінне засвоєння харчового заліза на синтез гемоглобіну. Насичення еритроцитів

гемоглобіном оптимізує енергетичний обмін, що є підґрунтям протипухлинної резистентності організму.

Водночас, різний спосіб і тривалість пиття води Нафтуса можуть змінювати співвідношення вихідних гідрофобних органічних сполук, що підлягають окисленню за участю цит. P₄₅₀, та їх активних мікросомальних метаболітів, і в такий спосіб, регулювати метаболічні процеси в перипортальній і перивенозній областях печінкової дольки, а також модулювати активність факторів неспецифічного захисту мієлоїдної і лімфоїдної природи.

Зокрема, ритмічне пиття води Нафтуса впродовж 14 днів, розпочате зразу ж після прищеплення карциноми Герена, супроводжується помірною активацією фагоцитозу і максимальним збільшенням чисельності ВГЛ. Дещо нижча чисельність ВГЛ у пухлиноносіїв, що довільно пили воду Нафтуса за аналогічним графіком, компенсується максимальною активністю кислої фосфатази.

Превентивне поїння пухлиноносіїв водою Нафтуса супроводжується максимальним збільшенням завершеності фагоцитозу, активності лужної і кислої фосфатаз, на тлі помірного приросту чисельності фагоцитів і ВГЛ. Варте уваги, що лише превентивне поїння шурів водою Нафтуса, активуючи перш за все, метаболічну складову загальної адаптаційної реакції, здатне гальмувати ріст перевивних пухлин у шурів впродовж значно тривалішого часу, ніж 14 днів після прищеплення [20]. Ритмічне, як і довільне, поїння шурів водою Нафтуса, розпочате через 7 днів після прищеплення пухлин, проявляє лише тенденцію до гальмування.

ВИСНОВОК

Органічні речовини-ксенобіотики води Нафтуса, запускаючи розгортання загальної адаптаційної реакції організму, забезпечують злагодженість структурних і функціональних змін, що дозволяє організму ефективно протидіяти пухлинному росту.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бегунова Г.С., Сердан А.А., Клячко Ю.А. Качественный анализ углеводов минеральной воды "Нафтуса" // Вопр. курортол.- 1985.- № 6.- С. 15-19.
2. Бреслер В.М., Никифоров А.А. Транспорт органических кислот через плазматические мембраны.- Л.: Наука, 1981- 203 с.
3. Булбук Г.А. Противоопухолевая резистентность и некоторые механизмы ее формирования при неспецифических воздействиях / Повреждения и регуляторные процессы организма: Тез. Докл.- М., 1982.- С. 307.
4. Векслер И.Г. Биологически активные полисахариды как неспецифические стимуляторы противоопухолевой резистентности организма // Эксперим. онкология.- 1981.- 3, № 4.- С. 10-17.
5. Воронцов В.А., Фролов Б.А., Филиппов В.К. О роли изменений естественной резистентности организма в патогенезе опухолевого процесса / Патогенез, диагностика и лечение злокачественных новообразований.- Куйбышев, 1984.-С. 36-39.
6. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. Адаптационные реакции и резистентность организма.- Ростов-на-Дону: Изд-во Ростов.ун-та, 1997. -119 с.
7. Гепатоцит: Функционально-метаболические свойства / П.В. Гулак, А.М. Дудченко, В.В. Зайцев и др.- М.: Наука, 1985.- 272 с.
8. Глушков А.Н. Механизмы образования и действия антител при канцерогенезе // Эксперим. онкология.- 1999.- 21, № 1.- С. 3-8.
9. Зильфян В.Н., Кумкумаджян В.А., Нерсисян А.К., Фичиджян Б.С. Повышение противоопухолевой резистентности крыс при иммунизации туляремийной вакциной //Эксперим. онкология.- 1986.- 8, № 1.- С. 60-62.
10. Ивасивка С.В. Морфологическая оценка реакции эндокринового аппарата желудка и двенадцатиперстной кишки на воду Нафтуса // Курортология и физиотерапия.- 1988.- 21.- С. 30-33.
11. Ивасивка С.В.Влияние нагрузки минеральной водой Нафтуса на эндокринные клетки антрального отдела желудка крыс // Вопр. курортол.- 1986.- № 6.- С. 55-57.
12. Ивасивка С.В., Бутусова И.А. и др. Активация гастринного аппарата у крыс водой Нафтуса и ее отдельными компонентами // Физиол. журн.- 1988.- 34, № 3.- С. 38-43.
13. Ивасивка С.В., Ковбаснюк М.Н., Унковская Д.М. Гепатопротекторное действие воды Нафтуса // Деп. в ВИНТИ.- № 3468-В.5.88.
14. Ивасивка С.В., Попович И.Л., Яременко М.С., Ковбаснюк М.Н. Минеральная вода Нафтуса как ксенобиотик // Физиол. журн.- 1990.- 36, № 3.- С. 40-45.
15. Ивасивка С.В. Біологічно активні речовини води Нафтуса, їх генез та механізми фізіологічної дії.- К.: Наук. думка, 1997- 111с.
16. Ивасивка С.В., Попович И.Л., Аксентійчук Б.І., Білас В.Р. Природа бальнеочинників води Нафтуса і суть її лікувально-профілактичної дії.- Трускавець: Трускавецькурорт, 1999.- 125 с.
17. Ивасивка С.В., Бубняк А.Б., Ковбаснюк М.М., Попович И.Л. Походження та роль фенолів у водах родовища Нафтусі // Проблеми патології в експерименті та клініці.- Львів, 1994.- 15.- С. 6-11.
18. Ивасивка С.В., Гавдяк М.В., Ковбаснюк М.М. Органічні речовини та металорганічні комплекси мінеральних вод як мітогени // Актуальні питання санаторно-курортного лікування та реабілітації: Мат. доп. н.-практ. конф., присв. 30-річчю сан. "Прикарпаття".- Трускавець, 1998.- С. 30-31.
19. Ивасивка С.В., Ковбаснюк М.М. Стимуляція еритропоезу мінеральною водою Нафтуса і її біотехнологічним аналогом // Мат. н.-практ. конф. "Чорнобиль та здоров'я населення".- К., 1994, том II.- С. 38-39.
20. Ивасивка С.В., Ковбаснюк М.М., Білас В.Р., Ходак О.Л. Вплив води Нафтуса на експериментальні пухлини у шурів // Медична гідрологія та реабілітація.- 2005.- 3, № 2.- С. 60-67.
21. Ивасивка С.В., Ковбаснюк М.М., Гучко Б.Я., Петрів М.М. Вплив мінеральної води Нафтуса на склад низькомолекулярних сполук слизової тонкого кишечника шурів // Фізіол. журн.- 44, № 3.- С. 330.
22. Ивасивка С.В., Ковбаснюк М.М., Файда О.І. Радіопротекторна дія мінеральної води Нафтуса // Реабілітація та лікування в санаторно-курортних умовах: тези доп. н.-практ. конф., присв. 55-річчю Трускавецького військового санаторію.- Трускавець, 1996.- С. 16-18.

23. Івасівка С.В., Корзун В.Н., Чайло П.П., Бейда П.А., Ковбаснюк М.М., Склярів О.Я., Стеценко Г.І. Вплив води "Нафтуса" на обмін цезію-137 та деякі біохімічні показники організму // Укр. радіол. журн.- 1997.- Т.5.-вип. 3.- С.283-285.
24. Кавецкий Р.Е. Взаимодействие опухоли и организма.- К.: Наук. думка, 1977.- 236 с.
25. Кавецкий Р.Е. Опухоль и организм. – К.: Гос. Мед. изд-во УССР, 1962.- 304 с.
26. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., Воробьев А.А. Эндогенные иммуномодуляторы.- С.-Пб: Гиппократ, 1992.- 256 с.
27. Киндзельский Л.П., Бутенко А.К. Естественные клетки-киллеры и их роль в противоопухолевой защите организма // Эксперим. онкология.- 1983.- 5, № 3.- С. 3-9.
28. Ковальчук Г.Я., Івасівка С.В., Попович І.Л., Білас В.Р. Вплив води Нафтуса на процес ліпопероксидації та імунітет у щурів // Проблеми патології в експерименті та клініці.- Львів, 1996.- 17.- С. 181-184.
29. Ковбаснюк М.М., Корзун В.Н., Бейда П.А., Гучко Б.Я. Вплив лікувальної води "Нафтуса" на гемопоез щурів при затруєнні радіоцезієм // Мед. реабіліт. потерпілих внаслідок Чорнобильської катастрофи: Тез. доп. н.-практ. конф.- Трускавець, 1996.- С. 25-26.
30. Ломейко С.М., Івасівка С.В., Ковбаснюк М.М. Гемопоетична активність води Нафтуса та її відтворення метаболітами автохтонної мікрофлори // Укр. бальнеол. журн.- 1998.- 1, № 2-3.- С. 20-24.
31. Монцевичюте-Эрингене Е.В. Упрощенные математико-статистические методы в медицинской исследовательской работе // Пат. физиол.- 1964.- № 4.- С. 71-74.
32. Пинчук В.Г. Развитие идей А.А. Богомольца в области изучения реактивности организма при опухолевом процессе // Физиол. журн.- 1981.- 27, № 3.- С. 327-331.
33. Пирс Э. Гистохимия (теоретическая и прикладная).- М.: Изд-во иностранной лит-ры, 1962.- 964 с.
34. Почки / Под ред. Ф.К. Мостофи и Д.Е. Смит.- М.: Медицина, 1972.- 464 с.
35. Продукты гидроксирования гидрофобных ксенобиотиков – стабилизаторы цитохрома Р-450 в гепатоцитах / Гепатоцит / Под ред. д.б.н. Л.Д. Лукьянова.- М.: Наука, 1985.- С. 165-169.
36. Розанов А.Я., Трещинский А.А., Хмельский Ю.В. Ферментативные процессы и их корреляция при экстремальных состояниях.- К.: Здоров'я, 1985.- 208 с.
37. Рябов С.И., Шостка Г.Д. Эритроциты и почка.- Л.: Наука, 1985.- 222 с.
38. Уманский Ю.А., Пинчук В.Г. Лимфоциты и опухолевый рост.- К.: Наук. думка, 1978.- 208 с.
39. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США / Под. ред. З.П. Софьиной, А.Б. Сыркина (СССР), А. Голдина, А. Кляйна (США).- М.: Медицина, 1980.- 296 с.
40. Яременко М.С., Івасівка С.В., Попович І.Л. и др. Физиологические основы лечебного действия воды Нафтуса.- К.: Наук. Думка, 1989.- 144 с.
41. Fischer G., Lilienblum W., Ullrich D., Bock K.W. Immunohistochemical differentiation of gamma-glutamyltranspeptidases in focal lesions and in zone I of rat liver after treatment with chemical carcinogens // Carcinogenesis.- 1986.- №7.- P. 1405-1410.
42. Gooding P.E., Chayen J., Sawyer B., Slater T.F. Cytochrome P₄₅₀ distribution in rat liver and the effect of sodium phenobarbitone administration // Chem. Biol. Interact. – 1978.- 20.- P. 299-310.
43. Jungermann K., Katz N. Functional specialization of different hepatocyte populations // Physiol. Rev.- 1989.- 69, № 3.- P. 708-764.
44. Kaminsky L.S., Tasco M.I. Small intestinal cytochromes P-450 // Crit. Rev. Toxicol.- 1991.- 21, № 6.- P. 407-422.
45. Leake R.E., Trench M.E., Barry J.M. Effect of cations on the condensation of hen erythrocyte nuclei and its relation to gene activation // Exptl Cell Res.- 1972.- 71.- P. 17-26.
46. Orsolich N., Basic I. Immunomodulation by water-soluble derivative of propolis: a factor of antitumor reactivity // J. Ethnopharmacol.- 2003.- 84, № 2-3.- P. 265-273.
47. Thomas F.B., McCullough F.S., Greenberger N.J. Effect of phenobarbital on the absorption of inorganic and hemoglobin iron in the rat // Gastroenterology.- 1972.- 62, №4.- P. 590-599.

S.V. IVASSIVKA, M.M. KOVBASNYUK

EXPANSION OF THE ORGANISM' GENERAL ADAPTATIVE REACTION UNDER THE WATER NAFTUSSYA AS THE MECHANISM OF THE GEREN' CARTSYNOMA GROWTH INHIBITION IN RAT

The organic substances-xenobiotics of the water Naftussya, starting the expansion of the organism' general adaptative reaction, provide the coordination of structural and functional changes, that allows to the organism effectively to interfere with tumour growth.

Відділ експериментальної бальнеології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАНУ, м. Трускавець

Дата поступлення: 14 жовтня 2008 р.