

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА БАЛЬНЕОЛОГІЯ

УДК 616.44-006

Б.А. НАСИБУЛЛИН, С.В. ИВАСИВКА, М.Н. КОВБАСНЮК

### ВЛИЯНИЕ НА ОБМЕН РЕГУЛИРУЮЩИХ МОЛЕКУЛ В ОРГАНИЗМЕ КРЫС, КАК ОСНОВНОЕ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗВЕНО ЛЕЧЕБНОГО ВЛИЯНИЯ ВОДЫ НАФТУСЯ, НА МОДЕЛИ ОНКОГЕНЕЗА

*Узагальнюючи результати експериментальних досліджень над 77 білими безпородними щурами, автори приходять до заключення, що розвиток пухлин супроводжується дисбалансом і пригніченням систем управляючих молекул організму (сечова кислота, катехоламіни, оксид азоту). Застосування води Нафтуса на цьому фоні приводить до покращення морфологічної картини пухлинного ураження і одночасного усунення дисбалансу систем управляючих молекул і збільшення їх вмісту в організмі. Керуючись отриманими даними, автори припускають, що БАР і іонний склад води Нафтуса сприяють підтримці рівня і балансу управляючих молекул. Автори припускають, що цей механізм є одним із провідних в біологічній активності Нафтусі.*

\* \* \*

#### ВВЕДЕНИЕ

Минеральные воды являют собой природный лечебный фактор, используемый уже многие столетия при лечении разных патологических процессов [13,14]. В то же время вопросы механизмов реализации биологического действия минеральных вод в силу сложности и динамичности их состава остаются недостаточно освещенными в доступной литературе.

Согласно современным представлениям многие патологические процессы, в том числе онкогенез, связаны с дисрегуляцией систем управления [7, 12]. Например, дисрегуляция программ апоптоза приводит к развитию лимфом или карцином; повреждение химическими или физическими факторами ДНК приводит к дерепрессии проонкогена и генов сцепления, что вызывает дисрегуляцию роста и дифференциации клеток [12].

Группа химических молекул, относимых к управляющим, сегодня признается достаточно многочисленной. Изменение в обмене некоторых из них, в динамике онкогенеза, и возможность влиять на него курсовым приемом воды Нафтуса рассмотрены в наших предыдущих работах [8, 9, 15, 16].

Многолетними исследованиями отдела экспериментальной бальнеологии Института физиологии им. А.А. Богомольца НАНУ установлено, что БАВ воды Нафтуса ведут себя в организме как ксенобиотики, воздействуя на защитные системы организма [8, 9]. Стимулирование систем адаптации организма ксенобиотиками, входящими в состав воды Нафтуса - важная составляющая ее биологического влияния [13].

Целью настоящей работы, обобщающей результаты наших исследований в этом направлении, является объяснение основных механизмов биологического действия воды Нафтуса, ее коррегирующее влияние на состояние регуляторных механизмов организма.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основой настоящей работы явились исследования над 77 беспородными белыми крысами, массой тела 200-220 г. 17 крыс, содержащихся в обычных условиях вивария, не подвергались никаким воздействиям и в дальнейшем служили контролем. 60 крысам, которые составили в последующем подопытные группы, была перевита саркомы 45, путем введения 0,5 мл взвеси клеток опухоли в области сосудистого пучка правого бедра, что обеспечивало наиболее оптимальные условия для развития опухоли. Подопытные крысы были разделены на две подгруппы по 30 животных. Животным первой подопытной подгруппы перевивка опухоли осуществлялась при отсутствии дополнительных воздействий. Крысам второй подгруппы перевивка опухоли осуществлялась на фоне предварительного 21 дневного курса поения водой Нафтуса. Через 17 дней после перевивки крыс выводили из опыта. Следует особо отметить, что

крысы второй подгруппы на протяжении 17 дней после перевивки опухоли продолжали получать воду Нафтуса в объеме, равном 1,5 % массы тела.

Объектом наших исследований, как отмечалось ранее, было состояние трех регуляторных систем организма - системы оксида азота, системы катехоламинов и системы мочевой кислоты.

Изменение в состоянии системы оксида азота оценивалось по гистохимически выявляемым сдвигам активности NO-S в тканях опухоли. Методика определения и оценки активности NO-S подробно изложена нами в предыдущей статье [15]. Поэтому в данной работе подробно мы не будем останавливаться на ней.

Состояние системы катехоламиновой регуляции оценивали по изменению содержания суммарных катехоламинов в эритроцитах крыс. Метод определения - цитохимический. Подробное изложение метода выявления и шкалы оценки также подробно изложены в предыдущей статье [16], в силу чего мы позволили себе не останавливаться на подробностях этого метода.

Содержание мочевой кислоты определяли в моче и сыворотке крови по методу Morimont, London. Баланс показателей содержания этой управляющей молекулы в исследуемых жидкостях позволил судить о состоянии всей системы мочевой кислоты во всем организме. Полученные результаты сводились в таблицу с последующим их анализом и оценкой.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сопоставление размеров опухоли у крыс первой и второй подгруппы выявило достоверные различия ( $p < 0,05$ ) этого показателя. Согласно данным таблицы 1, у крыс, поенных водой Нафтуса, масса опухоли почти вдвое меньше, чем в подгруппе сравнения. Связано это, на наш взгляд, со структурными различиями опухолей у крыс, получавших и не получавших воду Нафтуса.

Таблица 1

Состояние показателей основных систем управления у крыс с перевитой саркомой-45, поенных водой Нафтуса

Показатели		Интактные	Саркома-45, 17 дней	Саркома-45 +Нафтуса, 17 дней
Масса опухоли, г		-	18,9±2,9	7,6±2,7 $p < 0,05$
Мочевая кислота мкмоль/л	кровь	155,1±22,1	79,9±35,9	78,2±7,4
	моча	237,6±24,7	255,7±76,5	200,5±38,3
Суммарные катехоламины		2,48±0,36	1,5±0,31	2,38±0,27
Активность NO-S		<u>Слизистая матки</u> участки серовато-желтоватого прозрачного окрашивания; отдельные клетки с контуром из мелких серо-желтых гранул ( <u>слабая</u> )	Диффузная серо-желтоватая окраска, серые контуры клеток. Единичные клетки и контуры тела из желтоватых гранул (слабая-следовая).	Участки серо-желтого цвета. Контуры клеток (немногочисленных, серо-коричневые гранулы, ближе к умеренной).

Для первых характерно увеличение в структуре опухоли более плотного и мелкого волокнистого соединительно-тканного компонента, увеличение количества очагов некроза, при одновременном усреднении их размеров и уменьшение числа и объема сосудистых лакун.

Оценивая состояние изучаемых регуляторных систем в организме, в котором развивается опухоль (подгруппа сравнения), можно отметить следующее.

Содержание мочевой кислоты в сыворотке крови значительно снижается. Можно полагать, что имеет место угнетение нуклеинового обмена, конечным продуктом которого является мочевая кислота. Одновременно имеет место недостоверное повышение содержания мочевой кислоты в моче. В целом можно говорить о дисбалансе обмена этой возрастной управляющей молекулы и

возможности ослабления его регуляции нейротрофической функции, гемодинамики, различных сторон обмена [1].

Определение содержания суммарных катехоламинов показало резкое (почти вдвое) уменьшение их содержания в эритроцитах крыс с перевитой опухолью. Такое существенное снижение содержания суммарных катехоламинов не может, на наш взгляд, не ухудшить управляемость процессов жизнедеятельности.

Поскольку в интактных животных гистохимически выявляемые сдвиги активности NO-S наиболее полно проявляются в слизистых оболочках, мы, оценивая состояние системы оксида азота, сравнивали активность NO-S в опухоли с активностью NO-S в слизистой интактной матки. Как видно из данных таблицы 1, в перевиваемой опухоли фоновая окраска в целом не меняется, по сравнению с контролем. Но в клеточной популяции исчезают клетки с желтоватыми гранулами и отмечается значительное число клеток с сероватым контуром. Этот феномен позволяет полагать, что активность NO-S в опухолях снижается и может быть оценена как малая переходящая в следовую.

В целом, подводя промежуточные итоги, можно говорить о дизрегуляции - как значимом проявлении процесса развития опухоли, поскольку имеет место снижение активности регулирующих систем.

У крыс второй подгруппы (подопытной), для которых характерна меньшая масса опухоли, а также выраженность соединительно-тканной компоненты, вплоть до формирования сегментов, множественность очагов некроза, уменьшение числа и объема сосудистых лакун, монотонность структуры клеток, единичность фигур митоза, исследование состояния регуляторных систем показало следующее.

Согласно данным таблицы 1, содержание мочевой кислоты в сыворотке крови снижено по сравнению с контролем в два раза. Одновременно снижается содержание мочевой кислоты в моче. В целом соотношение урикемия/урикурия меняется, однако изменение менее выражено, чем у непоевших крыс. Можно говорить об угнетении нуклеинового обмена, однако возможность использования мочевой кислоты, как управляющей молекулы, у крыс этой подгруппы выше, чем у подгруппы сравнения.

Рассматривая содержание суммарных катехоламинов, можно отметить (табл.1), что изменения этого показателя по отношению к интактным животным практически отсутствуют.

Оценивая состояние системы оксида азота следует отметить, что по сравнению с контролем количество клеток, проявляющих NO-S активность, визуально не меняется. В то же время гранулы, контурирующие их, имеют более темную окраску. Очевидно можно говорить об усилении активности NO-S у крыс, поенных водой Нафтуса.

Таким образом, суммируя полученные данные, можно утверждать, что развитие опухоли сопровождается дизрегуляцией основных управляющих систем. Развивающийся дисбаланс урикемии/урикозурии, очевидно, обеспечивает снижение управляемости процессов ангиогенеза и метаболических процессов, что, с одной стороны способствует развитию опухолевого процесса, а с другой затрудняет локализацию и подавление этого процесса. Блокирование или противодействие влияния неблагоприятного фактора, как считается сегодня, реализуется, в том числе, и через норадренэргические нейроны гипоталамуса, которые синтезируют катехоламины. Выброс большого количества последних приводит к мобилизации функции органов и тканей через активацию протеинкиназ, липаз, фосфолипаз [7]. Повышение активности указанных ферментов в конце концов приводит к снижению вязкости мембран, к изменению липидного окружения мембраносвязывающих белков (ферментов, рецепторов, ионных каналов, ионных насосов). Такие процессы в биомембранах приводят к гибели клетки. Особенно чувствительны к катехоламиновым воздействиям малодифференцированные или постоянно обновляющиеся клетки (эпителиоциты слизистых, атипичные клетки) [2, 3, 6, 11]. Следовательно, обнаруженное нами резкое снижение содержания катехоламинов в динамике развития опухоли способствует не только дизрегуляции, но и прямому сохранению малодифференцированных клеток новообразования.

Оксид азота - универсальный фактор регуляции физиологических систем (в частности, сцепление клеток) и генетического аппарата клетки (Мыльшев, Манухина, 1998). Кроме того, установлено, что в макрофагах, клетках-киллерах, эндотелиоцитах, микрофагах образуются значительные количества оксида азота, обладающего цитотоксическим и цитостатическим действием на недифференцированные или атипичные клетки [4, 5]. Работы X.Макус и соавт., Moncada S. и соавт. [17] показали, что индуцирование NO-S активности приводит к образованию пероксинитритов, которые обуславливают выраженный цитотоксический эффект.

Отсюда следует, что обнаруженное нами снижение активности NO-S в ткани опухоли, с одной стороны обуславливает снижение сцепляемости клеток и может способствовать метастазированию, а с другой - затрудняет самоуничтожение атипичных клеток.

Вода Нафтуся при своем курсовом введении снижает дисбаланс урикемии/урикозурии, следовательно, упорядочивает ангиогенез, а значит затрудняет процесс формирования опухоли. С другой стороны, сохранение уровня катехоламинов под влиянием воды Нафтуся обеспечивает управляемость процессов дифференцировки, что находит свое отражение и в формировании секторальной структуры опухоли, и в уменьшении полиморфности клеточной популяции опухоли, а также в активации процессов аутолиза (увеличение числа некрозов). Наконец, стимуляция Нафтусей активности NO-S, очевидно, обеспечивает более активную гибель атипичных клеток.

Результаты наших исследований позволяют полагать, что биологическое действие воды Нафтуся в условиях такой тяжелой патологии, как онкогенез, прежде всего, проявляется в нормализации или тенденции к нормализации деятельности систем управления. Возможно это объясняется тем, что органические компоненты Нафтуси, стабилизируя мембранные структуры разных типов клеток [10, 16] и одновременно активируя системы детоксикации ксенобиотиков [8, 9], оказывают влияние не только на долгосрочные процессы, такие как дифференциация клеток, но и на быстрые изменения метаболизма и, прежде всего, управляющих молекул, которые одновременно являются и элементами самоуничтожения атипичных клеток. Восстановление уровня и баланса управляющих молекул позволяет сохранить единство организма, как системы, что, несомненно, облегчает ему ответ на внешние и внутренние неблагоприятия.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Аксентійчук Б.І. Роль сечової кислоти у ефектах стандартної бальнеотерапії на курорті Трускавець на параметри гомеостазу // Галицький лікарський вісник. - 2003. - Т.10, №1. - С. 12-14.
2. Васильева А.П., Стрельцова Н.Н., Сенчигова М.А. Клинический эффект низкоинтенсивного лазерного излучения как результат формирования адаптации организма // Вопросы курортологии, физиотерапии и ЛФК. - 1990. - №4. - С. 49-51.
3. Винник Ю.С., Попов В.О., Мухин С.П. О выборе оптимального режима лазерного облучения // Вопросы курортологии, физиотерапии и ЛФК. - 1994. - №3. - С. 35-37.
4. Винник Д.А., Водовоз Й., Кук Дж. и др. Значение химических свойств оксида азота для лечения онкологических заболеваний // Биохимия. - 1998. - Т. 63, №7. - С. 948-957.
5. Виноградов Н.А. Многоликая окись азота. // Рос. журнал гастроэнтерологии, гистологии, колопроктологии. - 1997. - №2. - С. 6-7.
6. Воронина О.Ю., Исапхан М.А., Степанова В.А. Нерезонансный механизм биостимулирующего действия низкоинтенсивного лазерного излучения // Физическая медицина. - 1992. - №1-2. - С. 40-50.
7. Дизрегуляционная патология (под ред. Г.Н. Крыжановского). - М.: Медицина, 2002. - С. 24-30.
8. Івасівка С.В. Біологічно активні речовини води Нафтуся, їх генез та механізми фізіологічної дії. - К.: Наукова думка, 1997. - 112 с.
9. Івасівка С.В., Попович І.Л., Аксентійчук Б.І. - Природа бальнеочинників води Нафтуся і суть її лікувально-профілактичної дії. - Трускавець: вид-во „Трускавецькурорт”, 1999. - 124 с.
10. Івасівка С.В., Ковбаснюк М.Н., Унковская Д.М. Гепатопротекторное действие воды “Нафтуся”.- Деп. в ВИНТИ, № 3486-V.05.88.- 14 с.
11. Илларионов В.Е. Основы лазерной терапии.- М.: Реликт, 1992. - 121 с.
12. Левицкий В.П. и др. Общая патофизиология (руководство).- М.: Медицина, 2000. - Т.1. - С. 374-378.
13. Лобода М.В., Кіртич Л.П. Мінеральні води Закарпаття (питні, лікувальне використання). - Ужгород, 1997. - 137 с.
14. Марантиди Г.Е. Лечебные минеральные воды и грязи УССР. - Киев: Наукова думка, 1965. - 221 с.
15. Насибуллин Б.А., Ковбаснюк М.Н., Івасівка С.В. Влияние воды Нафтуся на NO-синтазную активность клеток и связанные с этим изменения опухолевой ткани // Медична гідрологія та реабілітація. - 2003. - Т.1, №1. - С. 69-73.
16. Насибуллин Б.А., Івасівка С.В., Ковбаснюк М.Н. Особенности обмена некоторых управляющих молекул в организме крыс с перивитой опухолью саркома 45 под влиянием воды Нафтуся // Медична гідрологія та реабілітація. - 2005. - Т. 3, №1. - С. 78-80.
17. Moncada S., Toda N., Macda H., Higgs E.A. et al. The Biology of Nitric Oxide.- London: Portland Press, 1998.- 948 p.

## **B.A. NASIBULLIN, S.V. IVASSIVKA, M.M. KOVBASNYUK INFLUENCE ON THE METABOLISM OF MANAGER MOLECULES, AS THE BASIC PATHOGENETIC LINK OF THE MEDICINAL INFLUENCE OF THE WATER NAFTUSSYA, ON THE MODEL OF ONCOGENESIS**

Being generalized results of experimental investigations at 77 white mongrel rats, authors come to the conclusion, that the development of tumours is accompanied with the disbalance and the inhibition of systems of manager molecules of the organism (uric acid, catecholamines, nitric oxide).

Application of the water Naftussya against a this background lead to the improvement of the morphological picture of the tumours disease and the simultaneous removal of the disbalance of manager molecules and the increase of their maintenanse in the organism.

Being proceeded from obtained data, authors believe, that biological active matters and the ionic composition of the water Naftussya promote the maintenanse of the level and balance of manager molecules. Authors believe, that this mechanism is one of leaders in the biological activity of the water Naftussya.

УкрНДІ медичної реабілітації курортології та фітотерапії, м. Одеса

Дата поступлення: 18.10.2005 р.