

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ГРИЦИШИН ЛІЛІЯ ЄВГЕНІВНА

УДК 615.277.3:615.272+616-006-085

ДИСЕРТАЦІЯ

**ВПЛИВ ЦИТОСТАТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ НА ПЕРЕБІГ
МЕТАБОЛІЧНИХ ПРОЦЕСІВ В УМОВАХ ІНДУКОВАНОГО
КАНЦЕРОГЕНЕЗУ ТА ШЛЯХИ ЇХ КОРЕКЦІЇ**

222 Медицина
(22 Охорона здоров'я)

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____Л.Є. Грицишин

Науковий керівник: Фіра Людмила Степанівна, доктор біологічних наук,
професор

Тернопіль – 2021

АНОТАЦІЯ

Грицишин Л. Є. Вплив цитостатичних препаратів на перебіг метаболічних процесів в умовах індукованого канцерогенезу та шляхи їх корекції. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 Медицина (22 Охорона здоров'я) – Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, 2020.

Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, 2020.

Дисертація присвячена вивченню механізмів розвитку системних порушень в умовах експериментального канцерогенезу після проведення хіміотерапії й ефективності застосування терапії супроводу з метою корекції викликаних порушень.

У науковій роботі досліджено вплив цитостатика Кселоди та гепатопротектора Глутаргіну на перебіг диметилгідразин-індукованого колоректального раку.

Дослідження проводили на 144 нелінійних білих щурах-самцях. Піддослідні тварини були розділені на такі групи: контрольні – 6 тварин; експериментальна група щурів, уражених диметилгідразином (контрольна патологія – КП) – 42 тварини (з них кожен місяць відбирали та виводили з експерименту по 6 тварин протягом 7 місяців); група тварин, уражених диметилгідразином, яким щоденно вводили компоненти цитостатичної терапії, починаючи зі 7 місяця після моделювання аденокарциноми товстої кишки – 12 щурів (забій проводили через 14 та 21 день від початку введення цитостатика Кселоди); група уражених диметилгідразином тварин з поєднаним застосуванням цитостатика Кселоди, яким здійснювали корекцію гепатопротектором Глутаргін – 12 особин.

Експериментальний канцерогенез ініціює активізацію оксидативного стресу, порушення балансу медіаторів ензиматичної й глутатіонзалежної ланок антиоксидантної системи, а також викликає виражені метаболічні й

імуннореактивні порушення, які характеризуються змінами показників функціонального стану печінки, зростанням концентрацій маркерів цитолізу, а також ряду про- і протизапальних цитокінів: ІЛ-4, ІЛ-6.

В умовах експериментального канцерогенезу відзначено прогресуюче збільшення вмісту ТБК-активних продуктів, окиснювальної модифікації протеїнів (ОМП) у сироватці крові та печінці щурів, показники яких до кінця експерименту (7 місяць) виявилися найвищими. У сироватці крові щурів з канцерогенезом вміст ТБК-активних продуктів підвищився в 3,5 раза, 2,4-динітрофенілгідразонів (ОМП370) у 4,3 раза, 2, 4-динітрофенілгідразонів (ОМП430) – у 2,5 раза. Аналогічне підвищення даних показників спостерігалось і в печінці тварин після моделювання аденокарциноми товстої кишки.

Встановлено, що протягом 7 місяців ураження щурів диметилгідрaziном у сироватці крові щурів підвищується вміст маркерів ендогенної інтоксикації – молекул середньої маси обох фракцій (з переважанням аліфатичних та ароматичних амінокислот), максимум яких приходить на останній місяць дослідження. Дані показники підвищуються в сироватці крові уражених ДМГ щурів майже у 3 рази.

Використання хіміотерапевтичного препарату Кселоди призвело до ще більшого наростання оксидативного стресу й ендогенної інтоксикації в ураженому організмі, що вказує на побічний ефект при його застосуванні. Застосування даного засобу впродовж 14 та 21 дня спровокувало незначне зростання даних показників як у сироватці крові, так і в гомогенаті печінки уражених тварин.

Введення препаратів хіміотерапії погіршувало перебіг патологічного процесу, викликаючи посилення проявів оксидативного стресу й подальше зниження активностей ензиматичної й глутатіонзалежної ланок антиоксидантної системи, що супроводжується незначним зростанням вмісту ТБК-активних продуктів в тканинах досліджуваних органах, різким зниженням СОД активності у гомогенаті печінки (в 3,2 раза порівняно з контролем, тоді як в уражених ДМГ щурів даний показник знизився тільки у 2,1 раза). Зафіксовано

зниження каталазної активності та вмісту відновленого глутатіону як у сироватці крові, так і в печінці щурів з колоректальним раком. Після застосування Кселоди дані показники ще незначно знизились у досліджуваних тканинах.

Значна кількість утворених ендогенних токсинів чинить деструктивний вплив на клітинні мембрани. Це підтверджується активацією цитолітичних процесів в організмі щурів, на що вказує активність мембранозалежних ензимів у сироватці крові.

В умовах ДМГ-індукованої інтоксикації встановлено прогресуюче підвищення активностей амінотрансфераз (аспартатаміногтрансферази у 3 рази, аланінаміногтрансферази у 2 рази) і лужної фосфатази (у 2 рази) в сироватці крові тварин протягом 7 місяців. У крові тварин в динаміці ураження ДМГ відзначено збільшення відсотка проникності плазматичних мембран еритроцитів, який до кінця експерименту виявився на рівні 87 % порівняно з 24 % у щурів контрольної групи.

Застосування хімотерапевтичного препарату Кселода (капецитабін) посилювало підвищення активностей цих ензимів і еритроцитарного індексу інтоксикації, що свідчить про відсутність позитивного впливу цитостатиків на проникність клітинних мембран в організмі тварин з експериментальним канцерогенезом.

Використаний з метою усунення побічної дії цитостатика гепатопротектор Глутаргін виявився ефективним за умов експериментального канцерогенезу. Усі досліджувані показники зазнали змін у сторону нормалізації, що дозволяє продовжити вивчення впливу Глутаргіну на вільнорадикальні та запальні процеси, показники антиоксидантної системи та ендогенної інтоксикації в динаміці розвитку колоректального раку.

За умов змодельованого канцерогенезу спостерігались виражені розлади функціонування та дестабілізація факторів клітинної ланки лімфоїдної системи, а саме істотні зміни цитокинової матриці у піддослідних тварин, що є вкрай несприятливим фактором в умовах розвитку змодельованого неопластичного процесу.

Для виявлення змін цитокінового профілю в організмі піддослідних тварин за умов експериментально канцерогенезу, ускладненого застосуванням цитостатичного препарату Кселоди, та після застосування гепатопротектора глутаргіну нами було досліджено вміст певних класів цитокінів, а саме: протизапальний медіатор ІЛ-4 та прозапальний цитокін –ІЛ-6. В умовах 30 тижневого ураження щурів канцерогеном ДМГ відмічено вірогідне ($p \leq 0,05$) підвищення вмісту прозапального ІЛ-6 та зниження протизапального ІЛ-4, що вказує на розвиток запальних процесів в організмі тварин.

За умови поєднаного впливу ДМГ та цитостатика Кселоди спостерігалась аналогічна, але більш виражена тенденція змін вмісту про- та протизапальних цитокінів. Після 7 місяців ураження щурів ДМГ та 14 днів лікування Кселодою вірогідних змін відмічено не було. Вміст ІЛ-6 залишався практично на тому ж рівні, що у тварин з колоректальним раком. В уражених тварин, які отримували Кселоду протягом 21 дня, даний показник підвищився у 3,8 раза порівняно з контролем і на 28 % перевищив рівень тварин, у яких змодельований канцерогенез. Такі результати вказують на побічну дію цитостатика, що призводить до ще більш вираженого розвитку запальних процесів в ураженому організмі.

Протягом 7 місяців вміст ІЛ-4 у сироватці крові щурів із ДМГ-індукованим онкопроцесом прогресуюче знижувався. Починаючи з 2-ого місяця дослідження це зниження було вірогідним ($p \leq 0,05$) і до кінця експерименту вміст ІЛ-4 у 2 рази був нижчим від контрольного рівня. Після застосування цитостатичної терапії протягом 21 дня протизапальний цитокін незначно знижувався, практично не відрізняючись від такого в уражених ДМГ тварин.

Застосований нами Глутаргін призвів до підвищення вмісту ІЛ-4 у сироватці крові щурів (в 1,2 раза через 14 та 21 день його застосування щодо рівня уражених ДМГ тварин). Щодо рівня тварин, які на тлі онкопроцесу отримували цитостатик Кселоду, протизапальний цитокін зазнав підвищення в 1,2 раза після 14-денного використання Глутаргіну і в 1,3 раза після 21-денного його введення в організм.

Таким чином, проведене експериментальне дослідження дозволило зробити висновок про те, що за умов змодельованого канцерогенезу спостерігаються виражені розлади функціонування та дестабілізації факторів клітинної ланки лімфоїдної системи, а саме істотні зміни цитокінової матриці у піддослідних тварин, що є вкрай несприятливим фактором в умовах розвитку змодельованого онкопроцесу. Отримані результати підтверджують позитивний вплив глутаргіну на розвиток запальних процесів в організмі щурів за умов експериментального канцерогенезу після застосування цитостатичної терапії, на що вказує часткове відновлення дисбалансу про- та протизапальних цитокінів.

В умовах експериментального канцерогенезу відзначені виражені структурні зміни печінки, що характеризуються судинними розладами, порушенням дольково-балочної організації органу, пошкодженням ядер, плазматичних і органоїдних мембран гепатоцитів. Ще більшого пошкодження зазнавала структура печінки тварин, яким вводили цитостатик Кселоду на тлі змодельованого хімічного онкопроцесу.

Використання гепатопротектора Глутаргін для корекції експериментального канцерогенезу за умов застосування Кселоди помітно зменшує структурні зміни печінки, активізує в них процеси репаративної регенерації. Нормалізація судинної системи, дольково-балочної структури печінки, ядер і органел цитоплазми гепатоцитів, є свідченням відновлення функцій досліджуваного органу.

Наукова новизна одержаних результатів. У результаті проведених досліджень встановлено, що за умов 1,2-диметилгідразин індукованого канцерогенезу в організмі щурів активуються вільнорадикальні процеси, зокрема, ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів. Це призводить до дисбалансу в системі антиоксидантного захисту, поглиблення ендогенної інтоксикації та розвитку мембранодеструктивних процесів.

В умовах 30-тижневої неопластичної інтоксикації прогресуюче наростає активність запальних процесів, що підтверджується дисбалансом у вмісті про-

та протизапальних цитокінів (вміст інтерлейкіну-6 підвищився в 3,6 рази, інтерлейкіну-4 знизився в 2 рази до кінця експерименту).

Уперше за умов колоректального раку нами застосований цитостатик Кселода. Введення його протягом 21 дня в організм тварин з колоректальним раком викликало незначну активацію окиснювальних процесів, підвищення активності у сироватці крові маркерних ензимів печінки (амінотрансфераз та лужної фосфатази), вмісту прозапальних цитокінів, що засвідчує побічний негативний вплив цитостатика на печінку.

Для усунення побічної дії цитостатичної терапії нами вперше запропонований гепатопротектор Глутаргін, який ефективно вплинув на функціональний стан печінки. Після його застосування протягом 21 дня у щурів з експериментальним канцерогенезом, лікованих цитостатиком Кселодою, вірогідно ($p \leq 0,05$) знижувалась активність процесів ліпопероксидації (вміст ТБК-активних продуктів знизився в 1,8 рази як у сироватці крові, так і в печінці щодо тварин, які його не отримували) та окиснювальної модифікації протеїнів, відновлювалась активність ензимів антиоксидантного захисту (супероксиддисмутази та каталази), вміст церулоплазміну та відновленого глутатіону. Під впливом Глутаргіну знижувався вміст молекул середньої маси (маркерів ендогенної інтоксикації) та коефіцієнт їх розподілу, а також пригнічувалась активність запальних та цитолітичних процесів у щурів, про що засвідчило відновлення дисбалансу цитокінів та активності органоспецифічних ензимів печінки (активність аланінамінотрансферази та лужної фосфатази).

Практичне значення отриманих результатів. Отримані результати можуть бути рекомендовані в клініко-лабораторну практику для визначення тяжкості перебігу онкопроцесу, який супроводжується неопластичною інтоксикацією, що дозволить на більш ранніх термінах діагностувати розвиток злоякісної пухлини.

Доведена ефективність застосування гепатопротектора Глутаргіну для усунення побічної дії на печінку цитостатика Кселоди, який використовувався для пригнічення розвитку аденокарциноми товстої кишки. Експериментальні дані підтвердили позитивний вплив використаних препаратів на окиснювальні,

запальні та мембранодеструктивні процеси в організмі, а також стан захисних систем, що зумовило можливість запропонувати їх до включення у загальні схеми лікування онкохворих.

Результати дисертаційної роботи впроваджені у науково-педагогічний процес ряду кафедр: біологічної та медичної біохімії імені академіка Г. О. Бабенка Івано-Франківського національного медичного університету, біоорганічної, біологічної та клінічної біохімії Буковинського державного медичного університету, біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова, медичної біології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Ключові слова: експериментальний канцерогенез, ендогенна інтоксикація, оксидативний стрес, цитостатик, гепатопротектор, печінка.

ANNOTATION

Grytsyshyn L.Ye. Influence of cytostatic drugs on the course of metabolic processes in induced carcinogenesis and their correction. – Qualifying research paper, manuscript copyright.

Doctoral thesis in Medicine, speciality 222 General Medicine (22 Health Care) – I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, 2020.

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, 2020.

The study of mechanisms of system disturbances development in cases of experimental carcinogenesis after introduction of chemotherapy components as well as efficacy of supporting therapy for correction of associated disorders is presented in the thesis.

The effect of Xeloda cytostatic and Glutargin hepatoprotector on the course of dimethylhydrazine-induced colorectal cancer was studied.

The study was performed on 144 male outbred white rats.

Experimental animals were divided into the following groups: a control group involving 6 animals; an experimental group of rats affected by dimethylhydrazine (control pathology – CP) – 42 animals (6 animals were taken from the experiment every month during 7 months); a group of animals affected by dimethylhydrazine

administered daily with components of cytostatic therapy, starting from the 7th month after colon adenocarcinoma modeling – 12 rats (slaughter was performed in 14 and 21 days after introduction of cytostatics); a group of animals affected by dimethylhydrazine with the combined use of Xeloda cytostatic that was corrected with Glutargin hepatoprotector – 12 animals.

Experimental carcinogenesis initiates oxidative stress activation, stimulation of free radical oxidation processes, imbalance of mediators of enzymatic and glutathione-dependent links of the antioxidant system, and causes severe metabolic and immunoreactive disorders characterized by liver dysfunction, increase in concentrations of markers of cytolysis as well as a number of pro- inflammatory and anti-inflammatory cytokines: IL-4, IL-6.

In experimental carcinogenesis, a progressive increase in the content of TBA-active products, oxidative modification of proteins (OMP) in the blood serum and liver of rats was evidenced, which rates were the highest by the end of the experiment (by the 7th month). In the serum of the rats with carcinogenesis, the content of TBA-active products increased in 3.5 times, 2,4-dinitrophenylhydrazones (OMP370) – in 4.3 times, 2,4-dinitrophenylhydrazones (OMP430) – in 2.5 times. A similar increase in these parameters was evidenced in the liver of the animals after colon adenocarcinoma modeling.

It was established that during 7 months of affection of rats with dimethylhydrazine the content of markers of endogenous intoxication – the molecules of average weight of both fractions (with predominance of chain and aromatic amino acids), increased in the serum of rats; the maximal level was during the last month. These parameters increased in the serum of the affected DMH rats in nearly 3 times.

The use of Xeloda chemotherapeutic drug led to an even greater increase in oxidative stress and endogenous intoxication in the affected organism that evidenced a side effect of its introduction. Administration of this drug for 14 and 21 days provoked a slight increase of these parameters in the serum and liver homogenate of the affected animals.

Introduction of chemotherapy drugs worsened the pathological process and caused intensification of oxidative stress and further decrease of the activity of

enzymatic and glutathione-dependent antioxidant system followed by a slight increase in TBA-active products in the tissues of the studied organs, a rapid decrease in SOD activity in the liver homogenate (in 3.2 times compare to the control, whereas in the affected DMH rats, this parameter decreased in just 2.1 times). A decrease in catalase activity and the content of reduced glutathione was evidenced both in the serum and in the liver of the rats with colorectal cancer. After administration of Xeloda, these parameters somewhat decreased in the studied tissues.

A significant amount of endogenous toxins formed had a destructive effect on cell membranes. This was confirmed by activation of cytolytic processes in the body of rats that was proved by the activity of membrane-dependent enzymes in the serum.

In the presence of DMH-induced intoxication, a progressive increase in the activity of aminotransferases (aspartate aminotransferase in 3 times, alanine aminotransferase in 2 times) and alkaline phosphatase (in 2 times) in the serum of the animals during 7 months was established. In the blood of animals in the dynamics of DMH affection an increase in the percentage of erythrocytes plasma membranes permeability was evidenced, which by the end of the experiment was at the level of 87% compare to 24% of the control rats.

Introduction of Xeloda, a chemotherapeutic drug (capecitabine), enhanced the increased activity of these enzymes and the erythrocyte intoxication index that proved no positive effect of cytostatics on membrane-destructive processes in the animals with experimental carcinogenesis.

Glutargin hepatoprotector has proved its efficacy in reducing side effects of the cytostatic in experimental carcinogenesis. All studied parameters have returned to normal that allows further studying of the effect of Glutargin on free radical and inflammatory processes, parameters of the antioxidant system and endogenous intoxication in the dynamics of colorectal cancer.

In cases of modeled carcinogenesis, severe dysfunction and destabilization of cellular factors of the lymphoid system were evidenced, i.e. significant changes in the cytokine matrix in the experimental animals that was an unfavourable factor in development of the modeled neoplastic process.

To reveal the changes in the cytokine profile in the experimental animals with experimental carcinogenesis complicated with introduction of Xeloda cytostatic drug and after administration of the Glutargine hepatoprotector, the content of some classes of cytokines, i.e. anti-inflammatory mediator IL-4 and proinflammatory cytokine IL-6, was studied.

In cases of a 30-week affection of rats with the DMH carcinogen, a probable ($p \leq 0.05$) increase in the content of pro-inflammatory IL-6 and a decrease of anti-inflammatory IL-4 was observed that proved development of inflammatory processes in the animals.

Under the combined effect of DMH and Xeloda cytostatics, similar but more significant changes in the content of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines were evidenced. After a 7-month DMH affection of rats and a 14-day treatment with Xeloda, no significant changes were observed. The content of IL-6 was nearly at the same level as in the animals with colorectal cancer. In the affected animals administered with Xeloda for 21 days, this parameter increased in 3.8 times compare to the control, and exceeded the level of the animals with modeled carcinogenesis by 28%. These results proved a side effect of cytostatics that led to even more significant development of inflammatory processes in the affected body.

Within 7 months, the content of IL-4 in the serum of the rats with DMH-induced cancer was gradually reducing. From the 2nd month of the study, this decrease was probable ($p \leq 0.05$) and by the end of the experiment the IL-4 content was in 2 times lower than the control level. After the cytostatic therapy for 21 days, the anti-inflammatory cytokine reduced slightly, almost the same as that in the affected DMH animals.

Glutargin administration caused increase in the content of IL-4 in the serum of rats (in 1.2 times in 14 and 21 days compare to the affected DMH animals). Regarding the animals administered with cytostatic Xeloda in the presence of oncological process, the anti-inflammatory cytokine increased in 1.2 times after a 14-day Glutargin administration and in 1.3 times after a 21-day its introduction into the animals body.

Thus, the results of the experimental study allowed drawing a conclusion that in simulated carcinogenesis a significant dysfunction and destabilization of factors of lymphoid system cellular links were evidenced, i.e. significant changes in the cytokine matrix of the experimental animals, which was an unfavourable factor for development of the modeled cancer process. The obtained results confirmed a positive effect of Glutargin on the development of inflammatory processes in the rats with experimental carcinogenesis after cytostatic therapy, as evidenced by a partial re-establishment of the balance of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines.

In cases of experimental carcinogenesis, significant structural changes of the liver were observed, which were characterized by vascular frustration, disruption of a lobular organization of the organ, damage of kernels, plasma and organelle membranes of hepatocytes. The structure of the liver of the animals administered with the Xeloda cytostatic in cases of modeled chemical cancer process was even more impaired.

Glutargin hepatoprotector for correction of experimental carcinogenesis in cases of Xeloda administration significantly reduces structural changes of the liver, activates the processes of reparative regeneration. Regulation of the vascular system, lobular structure of the liver, nuclei and organelles of the cytoplasm of hepatocytes is an evidence of recovery of the studied organ functions.

Scientific novelty of the attained results. According to the results of the research it has been established that in cases of 1.2-dimethylhydrazine of induced carcinogenesis in the body of rats free radical processes, lipoperoxidation and oxidative modification of proteins in particular, activate. This leads to the antioxidant defence system imbalance, worsening of endogenous intoxication and development of membrane destructive processes.

In the presence of 30-week neoplastic intoxication the activity of inflammatory processes progressively increased that was confirmed by the imbalance in the content of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines (the content of interleukin-6 increased in 3.6 times, interleukin-4 decreased in 2 times by the end of the experiment).

For the first time the Xeloda cytostatic was used in colorectal cancer. Its introduction for 21 days into the animals with colorectal cancer caused a slight activation of oxidative processes, increased activity of liver marker enzymes in the serum (aminotransferases and alkaline phosphatase), and increased content of proinflammatory cytokines that evidenced a negative effect of cytostatics on the liver.

To reduce the side effects of cytostatic therapy, Glutargin hepatoprotector was suggested for the first time, which positively affected on the functional state of the liver. After its introduction for 21 days into the rats with experimental carcinogenesis treated with Xeloda cytostatic, probably ($p \leq 0.05$) the activity of lipoperoxidation processes decreased (the content of TBA-active products decreased in 1.8 times in both serum and liver compare to the animals that were not administered with this drug), as well as the activity of oxidative modification of proteins; the activity of antioxidant enzymes (superoxide dismutase and catalase), the content of ceruloplasmin and reduced glutathione re-established as well. Glutargin caused a decrease in the content of medium weight molecules (markers of endogenous intoxication) as well as their distribution coefficient; also the activity of inflammatory and cytolytic processes inhibited in the rats as evidenced by the re-establishment of cytokine balance and activity of organospecific enzymes of the liver (activity of alanine aminotransferase and alkaline phosphatase).

The practical consequence of the research results. The attained results can be suggested for clinical and laboratory practice to determine the severity of oncological processes, which are accompanied by neoplastic intoxication that allows diagnosing malignant tumours development at an early stage.

The efficacy of Glutargin hepatoprotector for reducing the side effect of the Xeloda cytostatic on the liver, which was used to inhibit development of colon adenocarcinoma, has been proved. Experimental results confirmed a positive effect of the drug on oxidative, inflammatory and membrane destructive processes in the body, as well as the defence systems that facilitated its inclusion into general treatment course for cancer patients.

The results of the thesis have been implemented into the research and learning process of a number of departments: G.O. Babenko Department of Biology and

Medical Biochemistry of Ivano-Frankivsk National Medical University, Department of Medical Biochemistry of I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Department of Bioorganic and Biological Chemistry and Clinical Biochemistry of Bukovynian State Medical University, Department of Biological and General Chemistry of Vinnytsia National Pirogov Medical University.

Key words: experimental carcinogenesis, endogenous intoxication, oxidative stress, cytostatic, hepatoprotector, liver.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації

1. Грицишин Л.Є. Стан антиоксидантної системи у щурів за умов диметилгідразин-індукованого канцерогенезу та застосування цитостатичної терапії / Л.Є. Грицишин, Л.С.Фіра, П.Г.Лихацький // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2019. – №3. – С.30-36.

2. Грицишин Л.Є., Фіра Л.С., Лихацький П.Г. Активність цитолітичних процесів у щурів за умов хронічної неопластичної інтоксикації після застосування цитостатиків / Л.Є. Грицишин, Л.С. Фіра, П.Г. Лихацький // Здобутки клін. і експерим. медицини. – 2019. – № 2. – С. 105-111.

3. Грицишин Л.Є. Окиснювальний стрес та ендогенна інтоксикація в щурів за умов експериментального канцерогенезу та після застосування цитостатиків / Л.Є. Грицишин, Л.С. Фіра, П.Г. Лихацький // Вісник проблем біології та медицини. – 2020.– №1. (155) – С. 112-116.

4. Grytcyshyn L., Fira L., Lykhatskyi P. Application of Glutargin hepatoprotector to remove side action of cytostatics under experimental carcinogenesis / Sciences of Europe № 48, (2020). – 27-32.

5. Grytcishin L. E. Development of the inflammatory process and endogenic intoxication in colorectal cancer after the application of cytostatics and hepatoprotectors/ L. E. Grytcishin, L. S. Fira, P. H. Lykhatskyi, D. B. Fira/ Journal of Education, Health and Sport. 2020; 10 (10): 381-392.

Наукові праці, які додатково відображають результати дисертації

6. Грицишин Л.Є. Дослідження маркерів цитолізу в щурів з неопластичною інтоксикацією. Матеріали XXIII Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених; 2019 Квіт 15-17; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2019, с. 290-291.

7. Грицишин Л.Є. Ефективність глутаргіну в умовах експериментального канцерогенезу після застосування цитостатиків. Матеріали XIV Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених; 2020 Квіт 13-15; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2020, с. 210-211.

8. Грицишин Л.Є., Фіра Л.С. Показники ендогенної інтоксикації у щурів за колоректального раку після застосування гепатопротектора глутаргіну на тлі цитостатичної терапії. Матеріали VIII наук.-практ.конф. з міжнар. участю. Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів; 2020 вересень. 23-24; Тернопіль. Тернопіль: ТНМУ; 2020, с. 274.

9. Грицишин Л.Є., Фіра Л.С. Ендогенна інтоксикація в організмі щурів за умов ДМГ-індукованого канцерогенезу після застосування цитостатиків. Матеріали науково-практичної дистанційної конференції з міжнародною участю. Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії; 2020, жовтень, 02. Харків, НФаУ; 2020, с.10.

10. Грицишин Л.Є., Фіра Л.С. Дослідження цитокінового профілю у щурів з індукованим колоректальним раком після застосування цитостатичної терапії. Матеріали XII Всеукраїнської науково-практичної конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», присвяченої Ювілейним датам заставнимків кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчю про. Бергера Е.Н. і 90-річчю проф. Маркової О.О., Галицькі читання II, 2020, жовтень, 29-30., Тернопіль, ТНМУ; 2020, с.33.

ЗМІСТ

	Стор.
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	18
ВСТУП.....	19
РОЗДІЛ 1 ОСОБЛИВОСТІ МЕТАБОЛІЧНИХ ПОРУШЕНЬ ПРИ ЗЛОЯКІСНИХ НОВОУТВОРЕННЯХ ТА ШЛЯХИ УСУНЕННЯ ПОБІЧНОЇ ДІЇ ВІД ЗАСТОСУВАННЯ ЦИТОСТАТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ (огляд літератури)	26
1.1 Поширення та механізм розвитку індукованого канцерогенезу товстої кишки.....	26
1.2 Протипухлинна хіміотерапія та її побічні ефекти	34
1.3 Сучасні гепатопротектори як засіб для усунення побічної дії цитостатиків на печінку.....	41
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	50
2.1 Дизайн експерименту	50
2.2 Методи дослідження	53
РОЗДІЛ 3 АКТИВНІСТЬ ОКИСНЮВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В ЩУРІВ ІЗ КОЛОРЕКТАЛЬНИМ РАКОМ, ЛІКОВАНИХ ГЕПАТОПРОТЕКТОРАМИ ПІСЛЯ ЦИТОСТАТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ.....	62
3.1 Активність процесів вільнорадикального окиснення в організмі щурів із індукованим ДМГ-канцерогенезом після застосування гепатопротекторів на тлі цитостатичної терапії	62
3.2 Дослідження показників антиоксидантної системи у щурів із експериментальним канцерогенезом після застосування гепатопротекторів на тлі цитостатичної терапії	69
РОЗДІЛ 4 ЗМІНИ ПРОНИКНОСТІ КЛІТИННИХ МЕМБРАН ТА СИНДРОМ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ В ОРГАНІЗМІ ПІДДОСЛІДНИХ ТВАРИН ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ХІМІЧНОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗУ ПІСЛЯ	

ЗАСТОСУВАННЯ ЦИТОСТАТИКІВ ТА КОРЕКЦІЇ ГЕПАТОПРОТЕКТОРОМ ГЛУТАРГІН	79
4.1 Зміни проникності клітинних мембран в організмі щурів з колоректальним раком та після застосування цитостатиків та гепатопротекторів.....	79
4.2 Вплив індукованого канцерогенезу на маркери ендотоксемії після застосування цитостатичної терапії та гепатопротекторів	88
4.3 Цитокіневий статус у щурів із індукованим канцерогенезом після застосування цитостатичної терапії та гепатопротекторів	96
4.4 Особливості структурної організації товстої кишки та печінки за експериментального канцерогенезу після застосування глутаргіну на тлі цитостатичної терапії	100
РОЗДІЛ 5 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	110
ВИСНОВКИ.....	134
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	137
ДОДАТКИ.....	160

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АлАТ	– аланінамінотрансфераза
АОС	– антиоксидантна система
АсАТ	– аспартатамінотрансфераза
1,2-ДМГ	– 1,2 диметилгідразин
2,4-ДНФГ	– 2,4-динітрофенілгідразони
АФО	– активні форми кисню
ВГ	– відновлений глутатіон
ВР	– вільні радикали
ВРО	– вільнорадикальне окиснення
ЕІ	– ендогенна інтоксикація
ЕП	– еритроцитарний індекс інтоксикації
ІС	– імунна система
КАТ	– каталаза
ЛФ	– лужна фосфатаза
МСМ	– молекули середньої маси
ОМП	– окисна модифікація протеїнів
ПОЛ	– перекисне окиснення ліпідів
СЕІ	– синдром ендогенної інтоксикації
СМП	– середньомолекулярні пептиди
СМП ₁	– вміст СМП, визначений при довжині хвилі 254 нм
СМП ₂	– вміст СМП, визначений при довжині хвилі 280 нм
СОД	– супероксиддисмутаза
ТБК-АП	– ТБК-активні продукти
ЦП	– церулоплазмін
ІЛ–6	– інтерлейкін – 6
ІЛ–4	– інтерлейкін – 4
NO	– нітрогену оксид
ЗН	– злоякісні новоутворення
ПХТ	– поліхіміотерапія
КП	– контрольна патологія
СЕІ	– синдром ендогенної інтоксикації
Ір	– індекс розподілу
КРР	– колоректальний рак

ВСТУП

Актуальність теми. На сьогоднішній день підвищення кількості хворих на онкологічні захворювання та низька ефективність їх лікування залишаються далеко не вирішеними проблемами. Тому, принципово важливим, фундаментальним завданням сучасних експериментальних та клінічних досліджень в онкології є вивчення існуючих та виявлення нових, в тому числі метаболічних чинників, які сприяють виникненню та прогресуванню пухлинного процесу [68, 156].

Серед злоякісних новоутворень органів травлення найбільш поширеним є рак товстої кишки. Метастазування злоякісних пухлин товстої кишки є причиною суттєвого погіршення якості життя пацієнтів та негативного прогнозу перебігу захворювання. Рак товстої кишки може бути асоційованим з різними патологіями печінки, підшлункової залози, наприклад, з діабетом II типу [141, 160, 167, 241].

Найбільш поширеним в патології людини є хімічний канцерогенез: до 90% раку обумовлено потраплянням в організм хімічних органічних сполук. Вивчення механізмів виникнення та метастазування раку товстої кишки проводять з використанням специфічних канцерогенів, одним з яких є 1,2-диметилгідразин (ДМГ) [62, 68, 167, 245].

На сьогодні науковці виявили зв'язок між багатьма захворюваннями і процесами ВРО. Процеси вільнорадикального окиснення, які вийшли з-під контролю антиоксидантної системи, можуть бути причиною багатьох захворювань: запальних процесів, гіпоксичних і реперфузійних пошкоджень тканин, бронхолегеневих захворювань, старіння, канцерогенезу й ін. Одним із фундаментальних механізмів життя клітин і процесів, що відбуваються в міжклітинному просторі, є утворення ВР. Процеси ВРО необхідно розглядати, як необхідну прооксидантну ланку в імунних реакціях, біосинтезі простагландинів і нуклеїнових кислот, окисному фосфорильованні [21, 26, 46, 49].

При злоякісних пухлинах спостерігають системне ураження організму продуктами розпаду пухлин та компонентами хіміотерапії. Хіміотерапія злоякісних пухлин – це медикаментозно викликаний критичний стан організму, оскільки всі хіміопрепарати є отрутою, яку застосовують з метою отримання циторедуктивного, цитостатичного ефекту [163, 186]. Хіміопрепарати, діючи циклоспецифічно, найшкідливій вплив чинять на клітини, що швидко діляться. Під дію цитостатичних препаратів, крім пухлинних, потрапляють здорові клітини-попередники гемопоезу, а також клітини деяких інших тканин з високою регенеративною активністю [175, 187].

Найнебезпечніші побічні ефекти, що викликають цитостатики, є кардіотоксичність, гепатотоксичність, нейротоксичність, нефротоксичність і вплив на імунну систему [52, 58]. Проте до сьогодні немає ефективних профілактичних та терапевтичних заходів, спрямованих на зниження проявів ендогенної ракової інтоксикації та усунення побічної дії від застосування хіміотерапевтичних заходів. Все це робить дану роботу своєчасною, доцільною та вимагає проведення низки експериментальних досліджень.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконана відповідно до планів наукових досліджень Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України і є фрагментом комплексних міжкафедральних науково-дослідних робіт “Біохімічні механізми порушень метаболізму за умов надходження до організму токсикантів різного генезу” (№ держреєстрації 0116U003353) та “Експериментальне дослідження метаболічних порушень в організмі за дії екзогенних токсикантів та при різних патологічних станах” (№ держреєстрації 0120U104148), де авторка є співвиконавцем частини зазначених НДР.

Мета дослідження: виявити та дослідити метаболічні порушення від побічної дії цитостатичних препаратів в умовах індукованого канцерогенезу й віднайти ефективні шляхи їх усунення.

Виходячи із мети дослідження були поставлені наступні завдання:

1. Вивчити активність процесів ліпопероксидації та окисної модифікації протеїнів в організмі щурів за експериментального канцерогенезу та дії цитостатика Кселоди.

2. Дослідити показники антиоксидантної системи у щурів за умов індукованого 1,2-диметилгідразином канцерогенезу після застосування цитостатика.

3. Виявити рівень ендогенної інтоксикації в організмі тварин за умов неопластичного токсикозу після використання цитостатичного препарату.

4. Встановити інтенсивність запальних процесів організмі щурів за умов хронічної неопластичної інтоксикації та дії цитостатичного препарату.

5. Дослідити ефективність застосування гепатопротектора Глутаргін за умов експериментального канцерогенезу з метою усунення побічного впливу цитостатика Кселоди на печінку.

6. Встановити особливості структурної організації товстої кишки та печінки в умовах розвитку експериментального канцерогенезу після застосування цитостатичного препарату Кселоди та гепатопротектора Глутаргіну.

Об'єкт дослідження. Перебіг експериментального канцерогенезу, індукованого 1,2-диметилгідразином, після застосування цитостатичних препаратів та корекція виявлених порушень гепатопротектором Глутаргін.

Предмет дослідження. Стан ендогенної інтоксикації, оксидативні та антиоксидантні зміни в організмі піддослідних тварин, активність запальних процесів в умовах експериментального канцерогенезу та на тлі прийому хіміотерапевтичних середників.

Методи дослідження: експериментальні – моделювання хімічно індукованого канцерогенезу; біохімічні – у цільній крові визначали рівень еритроцитарного індексу інтоксикації; у сироватці крові визначали активність аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази, лужної фосфатази, вміст середньомолекулярних пептидів та їх фракцій, церулоплазміну; у сироватці крові та тканині печінки вивчали каталазну, супероксиддисмутазну активність, вміст відновленого глутатіону, ТБК-активних продуктів, окисну модифікацію

протеїнів; імунологічні – у сироватці крові досліджували вміст інтерлейкіну-4 та інтерлейкіну-6; морфологічні – вивчення закономірностей структурної організації печінки та товстої кишки; статистичні – для обробки одержаних результатів використовували параметричні (критерій Стюдента) і непараметричні (критерій Вілкоксона) методи. При проведенні кореляційного аналізу застосовували метод параметричної кореляції з визначенням лінійного коефіцієнта кореляції Пірсона (r).

Наукова новизна одержаних результатів. У результаті проведених досліджень встановлено, що за умов 1,2-диметилгідразин індукованого канцерогенезу в організмі щурів активуються вільнорадикальні процеси, зокрема, ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів. Це призводить до дисбалансу в системі антиоксидантного захисту, поглиблення ендогенної інтоксикації та розвитку мембранодеструктивних процесів.

В умовах 30-тижневої неопластичної інтоксикації прогресуюче наростає активність запальних процесів, що підтверджується дисбалансом у вмісті про- та протизапальних цитокінів (вміст інтерлейкіну-6 підвищився в 3,6 рази, інтерлейкіну-4 знизився в 2 рази до кінця експерименту).

Уперше за умов колоректального раку нами застосований цитостатик Кселода. Введення його протягом 21 дня в організм тварин з колоректальним раком викликало незначну активацію окиснювальних процесів, підвищення активності у сироватці крові маркерних ензимів печінки (амінотрансфераз та лужної фосфатази), вмісту прозапальних цитокінів, що засвідчує побічний негативний вплив цитостатика на печінку.

Для усунення побічної дії цитостатичної терапії нами вперше запропонований гепатопротектор Глутаргін, який ефективно вплинув на функціональний стан печінки. Після його застосування протягом 21 дня у щурів з експериментальним канцерогенезом, лікованих цитостатиком Кселодою, вірогідно ($p \leq 0,05$) знижувалась активність процесів ліпопероксидації (вміст ТБК-активних продуктів знизився в 1,8 рази як у сироватці крові, так і в печінці щодо тварин, які його не отримували) та окиснювальної модифікації протеїнів, відновлювалась активність ензимів антиоксидантного захисту

(супероксиддисмутази та каталази), вміст церулоплазміну та відновленого глутатіону. Під впливом Глутаргіну знижувався вміст молекул середньої маси (маркерів ендогенної інтоксикації) та коефіцієнт їх розподілу, а також пригнічувалась активність запальних та цитолітичних процесів у щурів, про що засвідчило відновлення дисбалансу цитокінів та активності органоспецифічних ензимів печінки (аланінамінотрансферази та лужної фосфатази).

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати можуть бути рекомендовані в клініко-лабораторну практику для визначення тяжкості перебігу онкопроцесу, який супроводжується неопластичною інтоксикацією, що дозволить на більш ранніх термінах діагностувати розвиток злоякісної пухлини.

Доведена ефективність застосування гепатопротектора Глутаргіну для усунення побічної дії на печінку цитостатика Кселоди, який використовувався для пригнічення розвитку аденокарциноми товстої кишки. Експериментальні дані підтвердили позитивний вплив використаних препаратів на окиснювальні, запальні та мембранодеструктивні процеси в організмі, а також стан захисних систем, що зумовило можливість запропонувати їх до включення у загальні схеми лікування онкохворих.

Результати дисертаційної роботи впроваджені у науково-педагогічний процес ряду кафедр: біологічної та медичної біохімії імені академіка Г. О. Бабенка ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», біоорганічної, біологічної та клінічної біохімії ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет», біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова, медичної біології, паразитології та генетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно здійснено інформаційний пошук, аналіз джерел літератури. На основі встановлення актуальності та вивчення проблеми сформульовано мету та завдання роботи, обґрунтовано вибір об'єкта та методів дослідження. Здобувачем особисто виконано експериментальне моделювання патології, статистичний аналіз

результатів, розроблено основні теоретичні та практичні положення роботи. Спільно з працівниками Центральної науково–дослідної лабораторії державного вищого навчального закладу Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, що акредитована на право проведення вимірювань, які знаходяться в сфері державного метрологічного нагляду (Свідоцтво про атестацію № 000478 від 17 грудня 2008 р., Свідоцтво про атестацію № 053/13 від 04 березня 2013 р., Свідоцтво про технічну компетентність № 001/18 від 26 вересня 2018 р.) здійснено біохімічні, морфологічні та імунологічні дослідження на експериментальному матеріалі.

Здобувачем особисто написані всі розділи дисертації. Аналіз та узагальнення одержаних результатів, обґрунтування висновків проведено спільно з науковим керівником. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, використано фактичний матеріал, отриманий дисертантом у процесі виконання досліджень.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень, що включені до дисертації, оприлюднені на: XXIII Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль 2019); XIV Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2020); VIII науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2020); науково-практичній дистанційній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії» (Харків, 2020); XII Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», присвяченій Ювілейним датам заставників кафедри патофізіології ТДМУ 110-річчя Бергера Е.Н. і 90-річчя проф. Маркової О.О. (Тернопіль, 2020).

Публікації. Основні положення дисертації опубліковані у 10 наукових працях, в тому числі 5 – у фахових виданнях, рекомендованих для публікації результатів дисертаційних досліджень (з них 2 – за кордоном), 5 – у матеріалах з'їздів, конгресів і конференцій.

Структура та об'єм дисертації. Дисертаційна робота викладена на 166 сторінках комп'ютерного тексту (з них 133 сторіни основного тексту). Складовими частинами роботи є анотація, вступ, огляд літератури, опис матеріалів і методів дослідження, 2 розділи власних досліджень, аналіз й узагальнення результатів досліджень, висновки, список використаних джерел, що становить 249 посилань (124 – кирилицею і 125 – латиницею) та 5 додатків. Робота ілюстрована 15 таблицями та 23 рисунками.

РОЗДІЛ 1
ОСОБЛИВОСТІ МЕТАБОЛІЧНИХ ПОРУШЕНЬ ПРИ ЗЛОЯКІСНИХ
НОВОУТВОРЕННЯХ ТА ШЛЯХИ УСУНЕННЯ ПОБІЧНОЇ ДІЇ ВІД
ЗАСТОСУВАННЯ ЦИТОСТАТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ
(огляд літератури)

1.1 Поширення та механізм розвитку індукованого канцерогенезу товстої кишки

За даними Національного канцер-реєстру України (НКР) в 2017 році зареєстровано 137266 випадків захворювання на злоякісні новоутворення (ЗН); загальний показник захворюваності на ЗН складав 381,4 на 100 тис. населення, в тому числі 392,5 у чоловіків та 371,7 у жінок. У цей період відмічалось зростання захворюваності на ЗН у чоловіків на 1,6%, у жінок – на 1,2%. Тому, вирішення проблеми лікування пацієнтів із злоякісними новоутвореннями є однією з актуальних в медицині та біології. Не дивлячись на успіхи у вивченні причин та особливостей онкозахворювань, частота та смертність від них продовжують зростати [23, 64].

Серед злоякісних новоутворень органів травлення найбільш поширеним є рак товстої кишки. В Європі на цю патологію припадає 52 %, в Україні 45% усіх пухлин органів травлення. Щорічний приріст захворюваності становить 1,5 – 2,0 %, і в 30 % випадків хвороба виявляється в прогресуючій формі [118].

Хімічний канцерогенез є найбільш поширеним в патології людини: до 90% раку обумовлено потраплянням в організм хімічних органічних сполук. Хімічний канцерогенез протікає у вигляді трьох стадій [9, 47, 48].

Перша стадія - контакт канцерогенів із покривними тканинами, особливо епітеліальними, веде до легкого їх проникнення через бар'єр, та подальшого поступлення в рідке середовище організму. У рідкому середовищі канцерогени циркулюють певний час, протягом якого здійснюється ланцюг їх метаболічних перетворень. Канцерогени прямої дії, що не потребують активації при взаємодії з клітинами, проявляють відносно слабку здатність викликати неопластичну трансформацію. Сильніший ефект мають канцерогени непрямой дії, велика

частина яких представлена синтетичними хімічними сполуками. У клітинах такі сполуки окислюються цитохром-Р450 функціональною системою мітросом, головним чином, гепатоцитів, що складається з НАДФН-цитохром Р450-редуктази і цитохрому Р450 [68]. Ця система включає термінальні оксидази мітросомального НАДФН-залежного електронно-транспортного шляху, який здійснює метаболізм не тільки хімічних канцерогенів, а й широкого спектра інших органічних сполук - стероїдів, жирних кислот, різних ліків. У результаті окисної метаболічної активації хімічні канцерогени набувають здатність проявляти онкогенний вплив на клітини [96, 224].

Ліпофільні канцерогени непрямої дії, що метаболізуються, головним чином в печінці, з'єднуються з функціональними групами (гідроксильними) та різними речовинами – глюкуроною кислотою, глутатіоном і стають водорозчинними. Проміжні сполуки, що утворюються при метаболізмі непрямих канцерогенів, можуть набувати властивостей електрофільних прямих канцерогенів, що відносяться до класу алкілюючих сполук. У результаті зазначених вище метаболічних перетворень канцерогени стають здатними зв'язуватися клітинами-мішенями.

Друга стадія - фіксація метаболітів канцерогенів на субстратах клітин (цитоплазматичних мембранах, органелах, ядрах) веде до включення їх в клітинний метаболізм. Для виправлення викликаних канцерогенами порушень метаболізму, в клітинах включаються стандартні механізми підтримки гомеостазу. Позаядерна інактивація хімічних канцерогенів здійснюється за участі мітросомальної системи, в результаті чого окислені канцерогени втрачають біологічну активність. Антиканцерогенний захист клітин ефективний тільки за умови досить високого вмісту в них антиоксидантів - вітаміну А та його дериватів, вітамінів С і Е, протизапальних стероїдів й інших біологічно активних речовин. Напружена діяльність клітин, спрямована на інактивацію канцерогенів, ускладнюється пригніченням синтезу ДНК, РНК і протеїнів, послабленням активності мітохондрій та інших органел, порушенням фізіологічних функцій. Це веде до розвитку системних уражень і перехід до 3-ї стадії [126, 127, 227].

Третя стадія характеризується значною зміною синтезу ДНК і мітотичного поділу клітин. Оскільки канцерогени реагують з усіма видами інформаційних молекул клітини, це може викликати генетичні та епігенетичні ефекти. Генетичний ефект канцерогенів виникає в результаті прямої модифікації ДНК або модифікації РНК з утворенням зміненої ДНК при зворотній транскрипції та порушенні активності ДНК-полімерази. Епігенетичний ефект канцерогенів заключається в їх впливі на РНК, протеїни та в зміні транскрипції, що сприяє селективній стимуляції проліферації клітин [142, 227, 230].

Вивчення механізмів виникнення та метастазування раку товстої кишки проводять з використанням специфічних канцерогенів, одним з яких є 1,2-диметилгідразин (ДМГ). При тривалому застосуванні цієї речовини пухлини виникають і в інших відділах кишечника, зокрема у 12-палій кишці, а також можуть метастазувати або ж виникати *de novo* в таких органах як лімфатичні вузли, печінка та інші [145, 198, 228, 229].

ДМГ є високоспецифічним непрямим канцерогеном, який в дозозалежний спосіб викликає ініціацію та наступні етапи онкогенезу, що в результаті призводить до виникнення раку товстої кишки. Метаболізм ДМГ, як і будь-яких інших ксенобіотиків, проходить у печінці й становить собою ланцюг послідовних хімічних реакцій, в результаті яких утворюється низка проміжних продуктів (азометан, азоксиметан, метилазок) і кінцевий високоактивний канцерогенний метаболіт — метилдіазоніум-іон [216]. Метилазоксиметанол екскретується в жовч і з нею потрапляє в кишечник [211, 239].

Загальновідомо, що будь-який адаптивний або патологічний процес відбувається на фоні утворення активних форм кисню (АФО) та інтенсифікації вільнорадикального окиснення біосубстратів. Надмірна продукція АФО або порушення нормального функціонування систем антиоксидантного захисту викликають посилене окиснювальне ушкодження біомолекул, що призводить до розвитку окиснювального стресу та дисфункції клітин і тканин організму. Вважається, що посилення процесів перекисного окиснення вказує на порушення захисно-компенсаторних реакцій в організмі на клітинному рівні та гомеостазу в цілому. В багатьох роботах сучасних дослідників визначена роль

перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у нормальному та патологічному функціонуванні клітин [82, 214, 225, 226].

Проте, на сьогоднішній день доведено, що в стані окиснювального стресу під дією АФО перекисному окисненню підлягають не тільки ліпіди, а й, насамперед, протеїни плазматичних мембран. Вважається, що негативний ефект окисно-модифікованих протеїнів у клітинах пов'язаний із тим, що окиснені протеїни є джерелом вільних радикалів, які виснажують запаси клітинних антиоксидантів. *In vitro* показано, що продукти вільнорадикального окиснення протеїнів призводять до окиснювального ураження ДНК. При цьому перекисне окиснення протеїнів є не тільки пусковим механізмом патологічних процесів при стресі, а й найбільш раннім маркером окиснювального стресу. Динаміка змін продуктів перекисного окиснення протеїнів є відображенням ступеня окиснювального ураження клітин та резервно-адаптаційних можливостей організму [59, 220].

Процеси пероксидного окиснення знаходяться у динамічній рівновазі з функціонуванням добре розвиненої системи антиоксидантного захисту, яка представлена антиоксидантними ензимами та неензимними сполуками [61, 92, 236, 237].

Посилення процесів пероксидного окиснення внаслідок накопичення АФО є неспецифічною відповіддю клітин на вплив негативних факторів, у результаті чого в них виникає оксидативний стрес. Зростання вмісту АФО активує систему антиоксидантного захисту, що дозволяє живим організмам підтримувати окисно-відновний баланс та адаптуватися до змінених умов існування [81, 185].

При багатьох видах захворювань, що супроводжуються підвищеним рівнем ВР в організмі, інгібування ВРО антиоксидантами полегшує перебіг хвороби [89, 90, 97, 234].

Активність антиоксидантів обумовлюється стереоелектронними ефектами ароматичного та хроманового кілець, орто- та параположенням гідроксильних груп, тіоловими сполуками, хелатуванням металів змінної валентності, рецепторними взаємодіями з клітинною мембраною та ін.

Найкращу ефективність демонструють ферментні антиоксиданти. Мідь-цинквісна СОД, гемвісна каталаза, селенвісна глутатіонпероксидаза розкладають пероксид гідрогену і блокують утворення найагресивнішого гідроксильного радикалу [154, 181].

Супероксиддисмутаза (СОД) належить до антиоксидантних ензимів, що захищає організм від високотоксичних кисневих радикалів. СОД каталізує дисмутацію супероксиду в окисген і гідрогену пероксид. Ензим знаходиться в усіх клітинах, що поглинають окисген. Швидкість реакції надзвичайно висока та лімітується тільки швидкістю дифузії окисгену. Каталітичний цикл СОД включає відновлення та окиснення іону метала в активному центрі ензиму. СОД проводить інактивацію радикалів окисгену, що можуть виникнути в ході біологічних реакцій переносу електронів [189, 222, 223].

Каталаза (КАТ) - ензим, який знешкоджує токсичний для організму пероксид гідрогену у термінальній стадії вільнорадикального окиснення. Каталаза є вторинним месенджером в клітині, тому вона є не тільки ензимом антиоксидантного захисту, але й фактором впливу на передачу сигналу в клітині. На відміну від інших АФО, пероксид гідрогену є електронейтральною молекулою та може вільно дифундувати крізь клітинну мембрану. Порівняно з супероксиданіон-радикалом та гідроксил-радикалом, пероксид гідрогену є досить м'яким окислювальним агентом, що окислює залишки цистеїну в певних протеїнах, де просторове положення цистеїну поряд із полярним аніоном кислоти робить його доступним для окиснення та забезпечує вибірковість передачі сигналу тільки до певних протеїнів [177, 223, 240].

Вищенаведені ензими відіграють важливу роль у знешкодженні ВР: каталаза забезпечує руйнацію гідрогену пероксиду, а СОД – детоксикацію супероксидного радикала. Ці ензими визначають стійкість клітин до дії вільних радикалів.

Доволі важливим компонентом ензимної ланки антиоксидантної системи є глутатіонпероксидаза (ГП). В пептидному ланцюгу ГП є залишок селеноцистеїну – аналогу цистеїну, в якому атом сірки замінено атомом селену. В активний центр ензиму входить селеноцистеїн. Глутатіонпероксидаза

відновлює гідроперекиси вільних жирних кислот, гідроперекиси фосфоліпідів, етерифікованих жирних кислот. Ензим відновлюється НАДФ-залежною глутатіонредуктазою. Дві молекули відновленої форми при окисненні утворюють дисульфід [11, 63, 72, 104, 196, 243].

Церулоплазмін (ЦП) - це протеїн, що проявляє ензиматичну активність, а саме – транспортна форма міді, що є універсальним позаклітинним „гасителем” вільних радикалів.. Він відновлює в крові супероксидні радикали до кисню і води, чим захищає від пошкодження ліпідні структури мембран. Однією з функцій ЦП є нейтралізація ВР, які вивільняються макрофагами та нейтрофілами під час фагоцитозу, а також при інтенсифікації ВРО у вогнищі запалення. ЦП переносить мідь з печінки до органів і тканин, де вона функціонує у вигляді цитохром–С–редуктази і СОД. Ензим є фактором природнього захисту організму при запальних, алергічних процесах, стресових станах, пошкодженнях тканин, зокрема при інфаркті міокарда, ішемії, ендотоксемійних ураженнях [57, 74].

За попередження виснаження ензимного захисту організму відповідають екзогенні природні та синтетичні антиоксиданти [43, 89, 120]. Неензимні антиоксиданти можуть бути як ліпофільними: токоферол, вітамін А, убіхінон, бета-каротиноїди, так і гідрофільними: аскорбінова кислота, ліпоєва кислота, флавоноїди, глутатіон.

Відновлений глутатіон (ВГ) – головний антиоксидант еритроцитів. Він є коферментом при відновленні метгемоглобіну в функціонально активний гемоглобін. За допомогою ВГ здійснюється детоксикація пероксиду гідрогену та гідроперекисів, що утворюються при реакції АФО з ненасиченими жирними кислотами мембрани еритроцитів [11, 72, 104, 151].

Зростання процесів ВРО призводить до поглиблення синдрому ендогенної інтоксикації (СЕІ) та до збільшення вмісту молекул середньої маси (МСМ). Відмічається, що СЕІ супроводжується підвищенням вмісту МСМ, при цьому їх рівень корелює з тяжкістю захворювання. При різноманітних патологічних станах (токсемія, опікова хвороба, онкологічні захворювання) у крові з'являються в підвищених концентраціях МСМ, що охоплюють діапазон з

молекулярною масою 300-5000 Да. Саме ці молекули являють собою продукти деградації протеїнів та їхніх комплексів і відіграють роль ендотоксинів. МСМ, змінюючи фізико-хімічні властивості мембран, роблять їх більш вразливими для різноманітних негативних впливів, включаючи процеси перекисного окиснення ліпідів [136, 248].

Один із механізмів розвитку раку товстого кишечника пов'язаний з тим, що в результаті життєдіяльності мікроорганізмів кишкової групи, із екзогенних і ендогенних продуктів макроорганізми можуть утворюватися речовини (канцерогени), які викликають дисбаланс процесів диференціації, проліферації та апоптозу колоноцитів, і тим самим призводять до розвитку раку кишечника, з іншого боку – кишкова мікробіота є потужним модулятором гуморальної і клітинної ланок імунітету, бере участь у знешкодженні мутагенів за рахунок ензиматичного впливу та продукції антимуагенів [107, 110, 244].

Розвиток онкологічних процесів в різних органах часто асоціюється з хронічним запаленням, вказуючи на сильний зв'язок між запаленням і канцерогенезом [249].

У більшості пацієнтів із колоректальним раком виявлено порушення імунного статусу, що виражається зниженням рівня IgA і зростанням рівня прозапальних і протизапальних цитокінів, підвищення кількості В-лімфоцитів і концентрації циркулюючих імунних комплексів при загостренні захворювання [4]. Негативні зміни з боку імунної системи, дисбаланс цитокінової регуляції, порушення в системі антиоксидантного захисту вважаються основними механізмами розвитку канцерогенезу [125, 249].

Цитокіни є центральними сигналами імунної системи кишки, і беруть участь у порушенні нормального стану контрольованого запалення (фізіологічне запалення кишечника) [2, 10]. Цитокіни функціонують в організмі як єдина система, в якій між усіма інтерлейкінами існує чітка кооперація, що забезпечує їх участь в поетапному регулюванні імуномодулюючої, запальної, проліферативної реакції організму. Цитокіни відповідають за послідовність та завершеність імунної відповіді, здійснюють короткодистантну регуляцію міжклітинних взаємодій усіх ланок імунної системи [13]. Каскадний характер

дії цитокінів пояснюється індукцією синтезу одним цитокіном іншого та наявністю синергізму й антагонізму у взаємодії. Дисбаланс цитокінової регуляції та порушення рівноваги відповідних по біологічній активності пулів молекул веде до розвитку патології [14]. У здоровому організмі прозапальні цитокіни не повинні знаходитися в циркуляції, проте в деяких випадках вони можуть з'являтися, будучи проявом непомітних прихованих запальних процесів, а також імунопатологічних станів [4]. Ці клітинні взаємодії модулюються як традиційно вивченими цитокінами (ФНП- α , ІНФ- γ , ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-10, ТФР- β), так і нещодавно описаними (наприклад, ІЛ-13, ІЛ-12, ІЛ-18, ІЛ-23), які вважаються про- або протизапальні та антибластомні [147]. Деякі з них мають здатність блокувати апоптоз через протеїни bcl-2 та bcl-x, інтерлейкін (ІЛ)-2, ІЛ-3, ІЛ-4, ІЛ-10, фактори росту, а деякі (ФНП- α , ІНФ- γ ІЛ-1 та ін.) мають здатність індукувати апоптоз [205].

Ключовим в процесі запалення при аутоімунних захворюваннях і канцерогенезі вважається саме ФНП- α , який стимулюючи синтез ІЛ-1, -6, -8, простагландинів Е та І, посилює запальний процес, аутоімунне й запальне пошкодження тканин [144, 145].

Дія цитокінів на пухлини є багатоплановою. Цитокіни впливають безпосередньо на пухлинні клітини, при цьому гальмувати їх проліферацію, або можуть здійснювати пряму цитостатичну дію. Цитокіни сприяють зростанню протипухлинної резистентності організму, підвищують цитолітичну активність природних кілерів і моноцитів [2, 13].

Зниження продукції цитокінів та зниження рівня ФНП- α вказує на метаболічний дефіцит і спостерігається у хворих із запущеними стадіями раку кишківника [14, 71, 127].

Таким чином, цитокіни можуть по різному впливати на пухлинний процес. Порушення в цитокінпродукуючій активності імунокомпетентних клітин, спостерігаються при злоякісних новоутвореннях, і можливо, є одним з головних чинників порушення протипухлинного захисту організму [116, 134].

Отже, за колоректального раку мають місце порушення з боку про- та антиоксидантної системи, що призводить до активації вільнорадикальних

процесів у організмі, продукти яких чинять токсичний вплив на мембрани та викликають цитоліз клітин. При цьому спостерігається нагромадження значної кількості токсинів і поглиблення ендогенної інтоксикації, що зумовлює розвиток запальних процесів та ще більше нагромадження в організмі токсичних продуктів. Доцільним за вищевказаних порушень є використання засобів, які могли б усунути дані порушення, і в першу чергу, на нашу думку, є застосування цитостатичної терапії з метою пригнічення розвитку онкологічного процесу.

1.2 Протипухлинна хіміотерапія та її побічні ефекти

Хіміотерапія — це лікування злоякісних новоутворень, що включає в себе застосування синтетичних засобів, а також речовин рослинного походження, гормонів та інших протипухлинних препаратів. Інактивуючи розвиток пухлинних клітин, хіміотерапія здійснює побічний вплив на нормальні тканини — кістковий мозок, слизову оболонку шлунково-кишкового тракту, фолікули волосся, шкіру, та збільшує ризик інфекційних захворювань. Щоб знешкодити якомога більше ракових клітин, цитостатичні препарати призначаються в максимально припустимих дозах, що призводить до небажаних побічних ефектів [126].

Більшість хіміопрепаратів, діючи циклоспецифічно, здійснюють шкідливий вплив на клітини, що швидко діляться. У цю категорію, окрім пухлинних, потрапляють нормальні клітини-попередники гемопоезу, епітелій кишечника, а також клітини деяких інших тканин з високою регенеративною активністю. Особливо небезпечними є такі побічні впливи дії цитостатиків, як кардіотоксичність, гепатотоксичність, нейротоксичність, нефротоксичність [129].

Лікувальні заходи, спрямовані на знешкодження вогнищ злоякісного росту, одночасно викликають наростання синдрому ендогенної неопластичної інтоксикації. Ушкодження хіміотерапевтичними агентами пулу клітин, що швидко діляться й серед них клітин епітелію кишечника, призводить до транслокації у системний кровоплин грамнегативних кишкових бактерій та їх ендотоксинів [171, 174]. Токсичні метаболіти призводять до деструкції плазматичних та

цитоплазматичних мембран, до розвитку токсемії – виходу в кров із локального осередку токсинів, що викликають генералізацію патологічного процесу. При цьому в тканинах відбувається потужна активація процесів вільнорадикального окиснення, найбільш сприятливим субстратом якого стають мембранні ліпіди. Активація прооксидантних процесів за даних умов поєднується з депресією системи антиоксидантів. Блокада різних шляхів окисдування (ксантиноксидазний, СОД-залежний та інші) призводить до зменшення гемодинамічних, гематологічних змін і ступеня ушкоджень тканин внутрішніх органів [177].

Ступінь вираженості токсичних проявів хіміотерапії залежить від виду, доз хіміопрепаратів, тривалості лікування, загального стану пацієнта тощо. У більшості випадків він добре прогнозований та мінімізується шляхом проведення адекватної терапії супроводу [16, 33, 88].

Токсичність є одним із системних ускладнень протипухлинної терапії, яка характерна не лише для давно застосовуваних (препарати класу антиметаболітів – фторурацил, меркаптопурин), а й для сучасних цитостатичних препаратів. Цитотоксичність характерна для похідних платини (цисплатин, оксаліплатин), таксанів (паклітаксел, доцетаксел), вінкакалоїдів (вінкристин, вінорельбін), метотрексату, іфосфаміду, L-аспарагінази. Всі перелічені цитостатики можуть викликати незворотні порушення в організмі пацієнта [100, 104].

Протипухлинна терапія має цитостатичну (здатність гальмувати проліферацію пухлинних клітин) і цитотоксичну (приведення до їх повної загибелі, або апоптозу) дію. Хіміотерапію застосовують поєднано з хірургічним втручанням або променевою терапією, що дозволяє у хворих досягти поліпшення результатів, особливо у разі пухлин, чутливих до хіміопрепаратів. Є випадки коли хіміотерапію застосовують як самостійний метод лікування (наприклад при лімфогранулематозі, злоякісній лімфомі, лейкозі, дрібноклітинному раку легені) [112].

Використовують хіміотерапію, гормонотерапію, імунотерапію чи їх комбінацію залежно від чутливості пухлини до тих чи інших препаратів. При вирішенні питання про призначення медикаментозної терапії необхідно враховувати протипоказання, що можуть бути пов'язані як із пухлинним

процесом, так і з супутньою патологією [124].

Усі цитостатики за механізмом дії та хімічною будовою поділяють на алкілюючі сполуки, антиметаболіти, сполуки з компонентом алкілюючої та антиметаболітної дії, протипухлинні антибіотики, препарати рослинного походження, ензими та різні препарати за походженням (синтетичні й природні). До синтетичних належать алкілюючі агенти й антиметаболіти. До продуктів природного походження включають антибіотики, речовини рослинного походження, ензими та гормони [165].

При всій відмінності в механізмах дії загальним для ефектів цитостатичних препаратів є їх кінцева спрямованість на знешкодження пухлинних клітин. Таке пошкодження реалізується або шляхом прямої взаємодії з ДНК, або через ензими, відповідальні за синтез і функцію ДНК. Подібний механізм не забезпечує вибірковості протипухлинної дії, оскільки впливу піддаються не лише злоякісні, але й проліферуючі клітини нормальних тканин. Цим пояснюється обмеженість можливостей хіміотерапії цитостатиками та створюється основа для розвитку ускладнень [176, 209].

Найчастішими для хіміотерапевтичних препаратів є ускладнення, пов'язані з цитотоксичним впливом на тканини з вираженою проліферативною активністю. Практично всі цитостатики, що використовують у лікуванні, крім вінкристину, блеоміцину, аспарагінази та проспідію хлориду, в терапевтичних дозах пригнічують гемопоез, відрізняючись переважно дією на ту чи іншу ланку кровотворення та ступенем цитопенії.

Колоректальний рак є відносно резистентним до дії цитостатиків [193, 201, 215]. Протягом тривалого часу єдиними препаратами, активними при цій формі злоякісних пухлин залишалися 5-фторурацил і його похідні. У 90-х рр ХХ століття в онкологічну практику увійшли принципово нові препарати, які мають протипухлинну активність при колоректальному раку: іринотекан, похідне платини III покоління оксаліплатин, ралтітрексід, а також нові пероральні фторпіримідин - UFT і капецитабін.

Клінічне вивчення цих препаратів показало, що їх використання в складі лікарських комбінацій дозволяє підвищити загальну ефективність хіміотерапії

хворих на колоректальний рак і збільшити їх шанси на продовження життя. Дослідження показали, що медіана виживаності хворих з метастатичним колоректальним раком при симптоматичній терапії становила лише 8 міс, при хіміотерапії з використанням комбінації 5-фторурацилу з лейковаріном збільшилася до 12 міс, при використанні сучасної хіміотерапії комбінаціями, що включають іринотекан і оксаліплатин, підвищилася до 15 -17 міс, а при послідовному застосуванні цих комбінацій, що містять іринотекан або оксаліплатин, зросла до 20 міс [193]. При хіміотерапії раку товстої кишки в неоперабельних випадках призначають 5-фторурацил і фторафур; перший препарат в більшості випадків дає кращий результат. Однак ефект від хіміотерапії короткочасний і відзначається тільки у половини хворих на рак товстої кишки.

Давно відомо про синхронізуючу властивість 5-фторурацилу [193]. Під дією цього препарату відбувається гальмування клітин, які діляться, у фазі S клітинного циклу і тому, в подальшому, вступають у мітоз синхронно. Саме у S фазі клітини найбільш чутливі до опромінення. Пухлини, клітини яких перебувають у фазі синтезу ДНК, виявляють резистентність до опромінення, але чутливі до дії 5-фторурацилу.

Посилення ефекту поліхіміотерапії відмічено при застосуванні інгібіторів топоізомерази I і II, яке дає можливість підвищувати чутливість злоякісно трансформованих клітин до хіміотерапії та/або опромінення. До цієї групи хіміопрепаратів належить протипухлинний антрацикліновий антибіотик доксорубіцин, який є інгібітором топоізомерази II. Він має здатність порушувати процеси реплікації та транскрипції ДНК у пухлинних клітинах, а також порушувати функцію клітинних мембран і сприяти утворенню вільних радикалів [206]. Все це призводить до виникнення мітотичних блоків, незбалансованого росту та загибелі клітин пухлини.

Інший препарат цієї групи – іринотекан – напівсинтетичне похідне камптотечину є специфічним інгібітором ДНКтопоізомерази I. Відноситься до фазоспецифічних препаратів, що максимально ушкоджує пухлинні клітини, які знаходяться у фазі S-мітотичного циклу [211]. Ефект дії такий же, як у доксорубіцині – загибель клітин. Але механізм дії дещо інший. Реагуючи з

комплексом топоізомераза I – ДНК, іринотекан блокує реакцію відновлення фосфодієфірного зв'язку та вивільнення ензиму з комплексу. У результаті відбувається швидке накопичення розривів ДНК і перехід клітин в апоптоз.

Підвищення ефективності лікування онкології у пацієнтів хворих на рак досягнуто завдяки застосуванню нових препаратів та інтенсифікації режимів хіміотерапії. Проте, негативною стороною хіміотерапії є побічні ефекти протипухлинних лікарських засобів, зумовлені низькою селективністю більшості цитостатиків [212].

У клінічній практиці для лікування онкохворих застосовують велику кількість протипухлинних препаратів, проте, як правило, вони є токсичними для здорових тканин організму, а їх ефективність часто недостатня. Розвиток молекулярної біології, біохімії та біотехнології дає змогу створювати сучасні протипухлинні препарати, які б діяли на конкретні молекулярні мішені, характерні для пухлинних клітин, і таким чином, пригнічували ріст і ділення останніх, не впливаючи на нормальні клітини. Такі засоби отримали назву таргетних і тепер використовуються як доповнення або альтернатива класичним цитостатикам через цілеспрямовану дію на пухлинні клітини й відносно низьку загальну токсичність [176].

Препарати цисплатину (Цп) вважають найефективніших у сучасній хіміотерапії. У літературі спостерігається накопичення даних щодо токсичності сполук Цп, які зарекомендували себе як одні з доступних хіміотерапевтичних засобів, а механізм Цп-індукованої токсичності залишається до кінця нез'ясованим.

Усі відомі препарати Цп мають протипухлинний ефект і різний ступінь цитотоксичності в нормальних органах і тканинах, що стримує застосування цих препаратів. Перелік їх токсичних проявів дуже обширний (за класифікацією ВООЗ - біля 20), серед яких наводиться й офтальмотоксичність, що ускладнює перебіг основного захворювання, значно зменшує якість життя та становить загрозу життю [116].

Протипухлинна дія Цп реалізується через пошкодження ДНК ВР, призводить до порушення про- та антиоксидантного статусу, спричиняє

розвиток оксидативного стресу, ознаки якого виявляються в усіх шарах сітківки та можуть закінчуватися загибеллю її клітин [117].

Згідно з сучасною класифікацією антибластомних лікарських засобів, метотрексат (МТ) належить до групи антиметаболітів, а саме антагоністів фолієвої кислоти. Синтезований ще у 1948 р., МТ і сьогодні залишається найефективнішим препаратом цієї групи та використовується не лише для лікування онкологічних захворювань, але й аутоімунної патології. Механізм його дії полягає в конкурентному інгібуванні дигідрофолатредуктази та запобіганні утворення тетрагідрофолату, внаслідок чого відбувається гальмування синтезу нуклеїнових кислот і поділу клітин у S-фазі клітинного циклу [158]. Проте висока протипухлинна ефективність препарату одночасно поєднується з важкими побічними ефектами, серед яких одними з найнебезпечніших вважаються імуносупресія та гематотоксичність. Такий негативний вплив на імунну та кровотворну системи ускладнює застосування препарату у довготривалих курсах та, як наслідок, може зменшувати ефективність протипухлинної терапії.

Кселода (капецитабін) – перший представник принципово нового класу препаратів туморактивованих цитостатиків для ефективного лікування при раку верхніх дихальних шляхів, який дозволяє провести повний курс хіміотерапії в домашніх або амбулаторних умовах. Препарат перетворюється в 5-ФУ безпосередньо в тканині новоутворення під дією специфічного пухлинного ензиму тимідинфосфорилази, що забезпечує високу протипухлинну активність і низьку системну токсичність [50].

Кселода сама по собі не здатна знищувати ракові клітини. Спочатку вона повинна пройти три етапи перетворень в організмі людини. Причому останній етап перетворень, у результаті якого й утворюється кінцевий продукт з цитотоксичною активністю, відбувається в раковій пухлині. Це не тільки збільшує ефективність дії препарату, а й зменшує загальний негативний вплив на організм в цілому [51].

Кселода має унікальний туморактивний механізм дії, завдяки якому більша кількість препарату, що знищує ракові клітини (5-фторурацил), попадає

безпосередньо в пухлину, в порівнянні з внутрішньовенною хіміотерапією 5-фторурацилом / лейковорином. Це препарат нового класу фторпіримідинів, молекула якого (фторпіримідину карбонат) була створена так, щоб проявлялись наступні властивості: – можливість пероральної терапії (здатність імітувати безперервну інфузію 5ФУ, зручний і орієнтований на хворого метод лікування); – активація переважно в тканині пухлини, що може підвищувати ефективність лікування та зменшувати токсичність [201].

Кселода в незмінному вигляді всмоктується в тонкому кишечнику, потім в печінці під впливом карбоксилестерази гідролізується з утворенням проміжного метаболіту – 5-дезоксидезацитидин, який під дією цитидиндезамінази в тканині печінки і/або пухлини перетворюється в 2-й проміжний метаболіт – 5-дезоксидезафторуридин, і під дією тимідинфосфорилази 5-ДФУР перетворюється в 5-FU в тканинах новоутворення [121].

Таким чином, переважна активація препарату в тканині новоутворення забезпечує більш високі концентрації 5-ФУ в клітинах пухлини, ніж в здорових тканинах, що дозволяє уникнути надмірного системного впливу та може покращити переносимість при збереженні високої протипухлинної активності.

Кселода й її проміжні метаболіти – 5'-дезоксидезацитидин (5'ДФЦР) і 5'-дезоксидезафторуридин (5'ДФУР) не мають цитотоксичної дії. Вони стають активними тільки після швидкого перетворення в активну речовину 5-ФУ і його цитотоксичні анаболіти [100, 102].

Отже, хіміотерапія разом з хірургічним втручанням та променевою терапією є одним з найважливіших компонентів лікування злоякісних пухлин. Проведення хіміотерапії у разі онкологічних захворювань у частини пацієнтів супроводжується ускладненнями, які можуть розвинути як під час лікування, так і в перервах між курсами або після їх завершення. Найчастіше такими ускладненнями медикаментозного лікування раку є нудота та блювання, синдром лізису пухлин, тромбоемболічні ускладнення, нейтропенія, фебрильна нейтропенія, інфекційні ускладнення, кардіотоксичність, пульмотоксичність, нефротоксичність, гепатотоксичність, алопеція, вплив на статеву систему, нейротоксичність та ін. Нині не існує стандартизованого лікування ускладнень

хіміотерапії. Тому питання ефективної терапії супроводу для пацієнта є надзвичайно важливим.

1.3 Сучасні гепатопротектори як засіб для усунення побічної дії цитостатиків на печінку

Медикаментозне ураження печінки становить близько 10% усіх побічних реакцій, пов'язаних із застосуванням цитостатичних препаратів [140, 156]. Гепатотоксичність розвивається, найчастіше, ніж свідчить офіційна медична статистика, оскільки печінка є однією з основних ланок біотрансформації цитостатиків.

Окрім токсичної дії, свій негативний внесок у порушення функції печінки вносить глибока імуносупресія, зумовлена як самою пухлиною, так і лікуванням, а також інфікуванням вірусами хронічних гепатитів. При первинному або метастатичному ураженні печінки часто виявляють дифузну або фокальну інфільтрацію пухлинними клітинами, коли в процес залучаються портальні тракти та синусоїди, що призводить до портальної гіпертензії [171, 188].

Однією з основних причин структурно-функціональних порушень гепатоцитів у пацієнтів онкологічного профілю є синдром ендотоксикозу, який розвивається в результаті пухлинної інтоксикації, бактерійних та вірусних інфекцій, що приєднуються, а також унаслідок масивного лізису пухлинної тканини у відповідь на введення протипухлинних препаратів. Нині вивчено й інші механізми пошкодження печінки при прийомі лікарських препаратів, наприклад механізм імунної гепатотоксичності. Лікарська речовина або її метаболіт можуть стати гаптенем для протеїнів печінкової паренхіми, викликаючи її імунне пошкодження [171, 212].

Відомо, що печінка є органом, де метаболізується більшість цитостатиків. У літературі накопичилася значна кількість даних, що демонструють участь монооксигеназ печінки в їх метаболізмі. Виснаження системи цитохрому P450, яка бере участь у метаболізмі медикаментів, може призвести до зниження

виведення токсичних компонентів, що надходять в організм, викликати їх накопичення в органах і тканинах, порушити знешкодження ендогенних продуктів метаболізму або спричинити утворення вторинних, іноді ще токсичніших, ніж початковий продукт, речовин. Зниження ефективності цієї ензимної системи призводить до підвищення токсичності цитостатичних препаратів [3, 17, 18, 69, 96]. Так, за даними деяких досліджень, встановлено, що цитостатичні препарати можуть у декілька разів підсилити чутливість гепатоцитів до ендотоксину [171]. Крім того, роботами більшості дослідників доведено, що, оскільки виведення шкідливих для печінки речовин у цих умовах досить проблематичне, протипухлинні препарати можуть спричинити кумулятивну токсичну дію на її функціональний стан [69, 70, 71].

Токсична дія цитостатиків зумовлена зменшенням екстракції ліків гепатоцитами та пов'язана як з порушенням активності ензимів, так і з порушенням зв'язування з протеїнами плазми крові [80].

При застосуванні протипухлинних препаратів досить часто розвивається їх гепатотоксичний ефект, який проявляється досить широким спектром клініко-морфологічних варіантів патології печінки [100, 117]. Зокрема, при дослідженні метатрексату виявили, що разом з ураженням печінки за типом гострого гепатиту може розвиватися печінковий фіброз різного ступеня вираженості. Прояв токсичності 6-меркаптопурина характеризується некрозом й ожирінням гепатоцитів, формуванням фіброзу портальних трактів, холестатичним ураженням.

Токсичні гепатити з порушенням функції печінки можуть розвиватися внаслідок прийому циклофосфаміду, аспарагінази, дакарбазину, ідарубіцину, а також одного із сучасних протипухлинних препаратів — талідоміду, що має таргетну дію [101]. У гематології застосовують також імунодепресанти, зокрема, циклоспорин, які викликають токсичне ураження печінки [127].

Поєднання різних препаратів може призводити до потенціювання їх гепатотоксичності. Так, дія на печінку 6-меркаптопурина посилюється при паралельному застосуванні доксорубіцину [134, 135]. Тривале лікування цитостатичними препаратами може спричинити портальну гіпертензію

внаслідок формування вираженого фіброзу.

Особливою формою ураження печінки в пацієнтів з онкологічною патологією є венооклюзійна хвороба печінки, яка зустрічається, головним чином, при проведенні високодозової поліхіміотерапії (ПХТ). Венооклюзійна хвороба характеризується гіпербілірубінемією, швидким збільшенням і болючістю печінки, затримкою рідини з розвитком асцити [142, 147].

З появою нових високоефективних протипухлинних препаратів, настанням ери високодозової хіміотерапії порушення функції печінки є основними серед токсичних ефектів хіміотерапії. Найбільш серйозним порушенням функції печінки є пригнічення детоксикуючої функції, коли збільшується період напіврозпаду цитостатиків та їх активних метаболітів в крові, що приводить до пролонгованої підтримки в організмі високих концентрацій препаратів [148]. Основну роль в перетворенні лікарських засобів грають монооксидази, які одночасно забезпечують детоксикуючу функцію. Зниження ефективності вказаної ензимної системи, що настає при пошкодженні клітин печінки внаслідок низької селективності дії протипухлинних засобів, призводить до збільшення токсичності цих препаратів [149].

Деякі препарати (наприклад метотрексат) посилюють наявні порушення функціонального стану печінки, спричинюють розвиток холестазу, при цьому не впливають на протеїн- та ліпідосинтезувальну функцію печінки, а також не приводять до статистично значимих збільшень в крові показників ендотоксикозу [170]. Застосування більш високих доз хіміопрепаратів сприяє підсиленню проявів існуючих патологічних змін печінки при лікуванні раку.

Важливе місце в розвитку цитостатичного ураження печінки мають активація процесів перекисного окислення ліпідів, зниження антиоксидантного захисту та підвищення активності ліпосомальних ензимів. Тому застосування гепатопротекторних засобів з антирадикальною активністю для корекції цитостатичної гепатотоксичності є очевидною [134, 135]. До таких препаратів відносяться похідні бурштинової кислоти, в т.ч. реамберин.

Реамберин досить активно застосовується в клінічній практиці для лікування токсичних уражень печінки різного генезу. Мембраностабілізуючий

ефект сукцинатвмісних препаратів супроводжується зниженням рівня гідроперекисів ліпідів, метаболічний ефект проявляється в зменшенні ендогенної інтоксикації та інтенсивності ліпопероксидації, зниженні цитолізу. Оскільки біохімічними маркерами цитолізу є печінкові трансамінази (АлАТ, АсАТ), то їх моніторинг в процесі хіміотерапії є обов'язковим. Індикаторами холестази є рівень білірубину та лужної фосфатази. Сукцинатвмісні препарати знижують рівень трансаміназ, білірубину, лужної фосфатази, що вказує на їх детоксикуючу функцію. Рівень глутатіонтрансферази при цьому може підвищуватися, що супроводжується збільшенням активності антиоксидантного захисту [129, 130].

Сучасні тенденції вибору комплексної терапії токсичних уражень після застосування цитостатичних препаратів з метою лікування канцерогенезу передбачають застосування лікарських засобів, що впливають на всі ланки патогенезу й сприяють загальній нормалізації, або стабілізації системи гомеостазу [1]. Серед таких середників особлива роль належить гепатопротекторам.

Гепатопротектори запобігають порушенню структури та функції печінки за різних патологічних станів, прискорюють регенерацію й відновлення високої функціональної активності гепатоцитів, регулюють ВР процеси [3, 18, 32]. Поряд з іншими засобами, вони займають основне місце в комплексній терапії гострого і хронічного гепатиту, панкреатиту, цирозу печінки, нефропатії [22].

За механізмом дії гепатопротектори можна розділити на такі групи:

- а) антиоксиданти (вітамін Е, флавоноїди, тіоли та ін.);
- б) інгібітори мікросомальних ензимів печінки, що зменшують утворення пошкоджуючих, в тому числі ВР метаболітів гепатотоксичних ксенобіотиків (дитіокарб, метирапона тартрат і ін.) [12];
- в) препарати, що відновлюють цілісність мембран гепатоцитів (фосфоліпідні препарати);
- г) стимулятори метаболічних процесів, що підвищують регенераторний потенціал печінкової паренхіми (вітаміни, амінокислоти, нуклеозиди та ін.).

Прооксидантний ефект багатьох гепатотропних отрут у значній мірі

визначає патогенез їх пошкоджувального впливу на печінку, тому в якості гепатопротекторів широко застосовують антиоксиданти.

У дії антиоксидантів, за сучасними уявленнями, виділяють наступні механізми [17, 18]:

1. Інгібування окиснення, безпосередня взаємодія з ВР. При цьому утворюються малоактивні радикали антиоксидантів, що нездатні продовжувати ланцюгові реакції й ініціювати перекисне окислення біомолекул. Цю групу препаратів називають також скавенжерами – інгібіторами ВР реакцій.

2. Безпосередня взаємодія з гідроперекисами та руйнування їх. Останні спричиняють набухання мітохондрій, роз'єднання дихання та окиснювального фосфорилування, солюбілізацію мембранних структур. До антиоксидантів з подібним механізмом дії відносять диалкілсульфіди.

3. Блокування каталізаторів ВРО, передусім металів змінної валентності, внаслідок утворення комплексів з цими металами. Гальмування утворення ВР передусім може бути здійснено завдяки зв'язуванню та видаленню іонів заліза.

Ось чому антиоксидантна дія в модельних системах проявляється при введенні комплексонів – ЕДТА, дефероксаміну та ін. Вважають, що в живих системах подібну дію може мати карнозин (бета-аланіл-гістидин).

4. Підвищення активності антиоксидантних ензимів, в першу чергу СОД, КТ, ЦП. Пошук речовин з даним механізмом вважається досить перспективним напрямком досліджень, хоча і вимагає врахування проблеми сумісності природних та синтетичних антиоксидантів [29].

Для групи синтетичних вітчизняних препаратів, які створені на основі оригінальних ідей вітчизняних вчених та для виготовлення яких використовуються нові технології характерний широкий спектр фармакологічної дії та висока протективна активність при патології печінки. До таких ліків відносять: тіотриазолін, амізон, антраль, глутаргін, катерген, ліолів, ліпін [44].

До групи синтетичних фармакологічних засобів належить Антраль, який створено на основі координаційної сполуки алюмінію з амінокарбоною кислотою. Антраль належить до універсальних гепатопротекторів

антиоксидантної, антитоксичної, протизапальної, мембраностабілізуючої, анальгезуючої, імуномодулюючої й ангіопротекторної дії. Препарат пригнічує процеси ПОЛ, нейтралізує вільні радикали в сироватці крові й тканині, активізує ендogenous систему АОЗ. Окрім цього, Антраль підвищує рівень глікогену в печінці, синтез протеїнів і фосфоліпідів. Проникність мембран зменшується, що своєю чергою, зменшує ступінь ураження ядерного компонента гепатоциту та клітин Купфера, поліпшує репаративні процеси в печінці й позитивно впливає на її функціональний стан і метаболічні процеси [17].

Аналіз даних літератури показує, що одним з найбільш вживаних гепатопротекторів є есенціале [32], до складу якого входять есенціальні фосфоліпіди із соєвих бобів ((3-sn-фосфатидил)холін), які містять all-*rac*- α -токоферол) [11,16]. Механізм дії есенціале докладно вивчений багатьма авторами, він полягає в тому, що есенціальні фосфоліпіди проникають в мембрани клітин печінки та внутрішньоклітинних органел гепатоцитів і поновлюють динамічну єдність між фосфоліпідами та мембранними ензимами. Тим часом нормалізується функція мембран, органел клітини (синтез АТФ, детоксикуюча функція печінки). Есенціале, проникаючи в уражені гепатоцити, активно включається в певні ензиматичні реакції, посилює окислювальні процеси (окислювальне фосфорилування) та поліпшує оксигенацію в гепатоцитах, таким чином, створює сприятливі умови для регенерації печінкових клітин [32].

Дослідження есенціале в клініці довело його ефективність при різноманітних патологічних процесах печінки. При затяжних формах вірусного гепатиту есенціале нормалізує активність АлАТ, уростінази, макроглобулінів, знижує рівень білірубіну в сироватці крові, нормалізує ПОЛ, підвищує рівень вітаміну Е в тканинах [18, 22].

Глутаргін є поєднанням аргініну та глютамінової кислоти, які відіграють важливу роль у забезпеченні біохімічних процесів нейтралізації та виведення з організму високотоксичного метаболіту обміну азотистих речовин - аміаку. Гіпоамоніємічні ефекти лікарського засобу реалізуються шляхом активації

знешкодження аміаку в орнітиновому циклі синтезу сечовини, зв'язування аміаку у нетоксичний глутамін, а також підсилення виведення аміаку з центральної нервової системи та його екскреції з організму. Завдяки цим властивостям препарату знижуються загальнотоксичні, у т. ч. нейротоксичні ефекти аміаку [3].

Глутаргін має також гепатопротекторну дію завдяки своїм антиоксидантним, антигіпоксичним та мембраностабілізуючим властивостям, позитивно впливає на процеси енергозабезпечення у гепатоцитах [111].

L-аргінін виявляється інгібітором як початкових, так і кінцевих стадій ПОЛ завдяки здатності безпосередньо вступати в реакцію з супероксидним аніон-радикалом, зв'язуючи синглетний кисень і гідроксильний радикал. Антиоксидантні та мембраностабілізуючі властивості виявляють метаболіти аргініну — пролін, сечовина, поліаміни, гуанідінови основи. Екзогенне введення L-аргініну інгібує процеси ВРО через NO-регулювальну систему, оскільки NO за умов патологічної активації ПОЛ виявляє саме антиоксидантні властивості; при цьому коротка тривалість життя у біологічній системі та незначний радіус дифузії зумовлює локальність його дії у межах утворення — в печінці [28, 44, 45].

Глутамінова кислота й ряд її метаболітів здатні змінювати активність фосфорилази A_2 , сприяючи видаленню токсичних продуктів переокислених жирнокислотних залишків фосфоліпідів.

Глутаргін як глутаматвмістка сполука активує синтез глутатіону та гама-аміномасляної кислоти, сприяє активації глутатіонпероксидази, що беруть участь у детоксикації ліпідних перекисів. Через NO-механізм зменшує стресорну активацію ВРО за рахунок підвищення активності антиоксидантних ензимів і активації синтезу протеїнів „теплого шоку” й відтворення захисних ефектів адаптації [44, 45, 103].

Препарат проявляє антитоксичну та гепатозахисну активність, виступає як неспецифічний метаболічний регулятор обмінних процесів. Завдяки цим властивостям знижується рівень імунних комплексів, що циркулюють у крові,

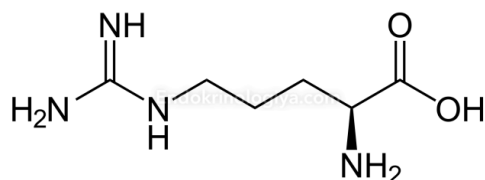
зменшується вираженість синдрому «метаболічної» інтоксикації та імунотоксикозу, підвищуються компенсаторно-приспосувальні реакції організму [32].

При алкогольній інтоксикації препарат стимулює утилізацію алкоголю у монооксигеназній системі печінки, попереджає пригнічення ключового ензиму утилізації етанолу - алкогольдегідрогенази; прискорює інактивацію та виведення токсичних продуктів метаболізму етанолу в результаті збільшення утворення та окислення бурштинової кислоти; знижує пригнічувальний вплив алкоголю на центральну нервову систему за рахунок нейромедіаторних збуджувальних властивостей глютамінової кислоти. Завдяки цим властивостям препарат проявляє антитоксичний ефект [53, 60].

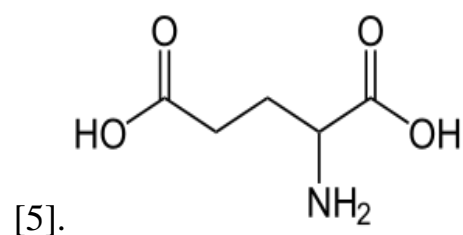
Глутаргін застосовують як профілактичний засіб, який має гепатопротекторну, антиоксидантну, детоксикаційну й мембраностабілізувальну властивість, за рахунок амінокислоти L-аргінін, яка є субстратом для синтезу NO [5]. За хімічною будовою даний препарат — це сіль L-аргініну та глютамінової кислоти (рис. 1).

Фармакологічна дія даного препарату обумовлена біологічною активністю та регуляторними властивостями амінокислот, що входять до його

складу



Глутамінова кислота



Аргінін

Рисунок 1 – Суміш глютамінової кислоти та аргініну (глутаргін)

Безперечний позитивний ефект у терапії захворювань печінки справляють гепатопротектори біофлавоноїдної природи [28]. Флавоноїди – це клас широко розповсюджених фенольних сполук із загальним структурним

складом С₆-С₃-С₆, які представляють значний інтерес як речовини з широким спектром біологічної дії [17, 24]. У механізмі дії флавоноїдів лежить інгібування гіалуронідази та катехол-0-метилтрансферази, вплив на транспортні АТФази, фосфодіестерази циклічних нуклеотидів, протеїнкінази, фосфоліпазу А₂, циклооксигеназу, ліпоксигеназу та ін. ензими. Інгібуюча активність флавоноїдів на вказані ензими нерідко в декілька разів, навіть у десятки разів, перевищує аналогічну активність інших препаратів того ж механізму дії. Так, силібінін інгібує фосфодіестеразу циклічного АМФ в досліджах іп уїго в 12-15 разів сильніше, ніж теофілін [17, 22]. Широкий спектр біологічної активності біофлавоноїдів зумовив їх застосування в гепатології, особливо це стосується препаратів росторопши плямистої [1].

Опрацювавши значну кількість публікацій вітчизняних та закордонних фахівців можна стверджувати, що проблема корекції метаболічних порушень за умов канцерогенезу все ще залишається складною та далекою до задовільного вирішення. Літературні дані, які стосуються можливості застосування за цих патологічних умов гепатопротекторів є недостатніми. Залишаються не висвітленими молекулярні механізми позитивного ефекту еферентних методів терапії за умов хімічного канцерогенезу та застосуванні цитостатичних середників.

Таким чином, проведений аналіз даних наукової літератури вказує на доцільність всебічного вивчення питань метаболізму та корекції онкогенного ураження організму, які були сформульовані як мета і завдання дослідження у вступі цієї роботи.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Дизайн експерименту

Роботу виконано на базі Центральної науково-дослідної лабораторії Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України (Свідоцтво про атестацію № 001488, видане 03.10.2003 р. чинне до 03.10.2007 р. Свідоцтво про атестацію № 000478, видане 17.12.2007 р., чинне до 16.12.2012 р. Свідоцтво про атестацію № 053/13, видане 04.03.2013 р., чинне до 03.03.2018 р. Свідоцтво про технічну компетентність № 001/18, видане 26.09.2018 р., чинне до 25.09.2023 р.).

Тварини утримувалися в приміщенні при постійній температурі 19 – 23 °С на збалансованому стандартному раціоні віварію Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України. Проводився щоденний контроль за загальним станом, масою тіла, летальністю. Маса тіла тварин складала 170-180 г. Експериментальних тварин рандомізували методом випадкової вибірки [73].

Піддослідні тварини були розділені на такі групи: контрольні – 6 тварин; експериментальна група щурів, уражених диметилгідразином (контрольна патологія – КП) – 42 тварини (з них кожен місяць відбирали та виводили з експерименту по 6 тварин протягом 7 місяців); група тварин, уражених диметилгідразином, яким щоденно вводили компоненти цитостатичної терапії, починаючи зі 7 місяця після моделювання аденокарциноми товстої кишки – 12 щурів (забій проводили через 14 та 21 день від початку введення цитостатика Кселоди); група уражених диметилгідразином тварин з поєднаним застосуванням цитостатика Кселоди, яким здійснювали корекцію гепатопротектором Глутаргін – 12 особин (забій тварин проводили у терміни як і в попередній групі).

Розподіл тварин по групах та строках виведення з експерименту представлено в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1 – Перелік груп досліджуваних тварин

Група спостережень	Кількість тварин
1. Контрольні тварини	6
2. Білі щури, уражені диметилгідразином	42
3. Білі щури, уражені диметилгідразином, яким вводили компонент цитостатичної терапії Кселоду протягом 14 та 21 доби	12
4. Білі щури, уражені диметилгідразином після застосування компонентів хіміотерапії, яким вводили гепатопротектор Глутаргін протягом 14 та 21 доби	12
Всього:	72

Експериментальний канцерогенез моделювали шляхом введення несиметричного 1,2-диметилгідразин гідрохлориду (ДМГ) (фірми SIGMA-ALDRICH CHEMIE, виробництва Японії, серія D161802), який попередньо розводили ізотонічним розчином натрію хлориду. ДМГ вводили підшкірно в міжлопаткову ділянку в дозі 7,2 мг/кг (з розрахунку на діючу речовину) 1 раз на тиждень впродовж 30 тижнів, відповідно до маси тварини [48]. Контрольній групі тварин щотижня підшкірно вводили 0,1 мл фізіологічного розчину на 100 грам маси тіла. Як компоненти цитостатичної терапії використовували препарат Кселоду, який вводили внутрішньошлунково щоденно в дозі 134 мг/кг маси тварини протягом 21 дня [50, 93] після моделювання аденокарциноми товстої кишки.

З метою корекції завданих порушень застосовували препарат Глутаргін виробництва ТОВ "Фармацевтична компанія "Здоров'я", м.Харків, Україна. У дозі 2100 мг/кг маси тіла тварини. Дози препарату підбирали, виходячи із середньотерапевтичної дози для людей та перерахунку на тварин, враховуючи видову чутливість [53].

Тварин виводили з експерименту під кетаміновим наркозом (внутрішньоочеревинне введення з розрахунку 75 мг/кг маси тіла тварини).

Для досліджень використовували гомогенат печінки, цільна кров та сироватка крові, а також для морфологічних досліджень забирали товсту кишку та печінку. Кров центрифугували при частоті обертання 3000 g впродовж 20 хв. Отриману сироватку крові (надосадову рідину) використовували для подальших досліджень. Відібрані органи (250 мг) гомогенізували за допомогою гомогенізатора магнітного Silent Crusher S після попередньої перфузії з 2,5 мл фізіологічного розчину.

У першій серії досліджень визначали такі показники: вміст ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) [85]; окисної модифікації протеїнів (ОМП) [54]; вміст церулоплазміну (ЦП) [67]; відновленого глутатіону (ВГ) [67]; молекул середньої маси (МСМ) [94]; супероксиддисмутазну активність (СОД) [119]; каталазну активність (КАТ) [77], а також визначення еритроцитарного індексу інтоксикації (ЕІ) [115].

У другій серії дослідження вивчали активність аспартатамінотрансферази (АсАТ), аланінамінотрансферази (АлАТ), лужної фосфатази (ЛФ) на напівавтоматичному біохімічному аналізаторі «Humalyzer 2000» із використанням стандартних наборів фірми «Human» (Німеччина). Вміст інтерлейкіну-4 (ІЛ-4) визначали методом твердофазного імуноферментного аналізу із застосуванням моноклональних антитіл до ІЛ-4 у наборі «ІФА-ІЛ-4» А-8754 фірми «ВЕКТОР-БЕСТ», Росія [205]; інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) – методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням моно- і поліклональних антитіл із різною етіотропною специфічністю до інтерлейкіну-6 у наборі «ІФА-ІЛ-6» А-8768 фірми «ВЕКТОР-БЕСТ», Росія [143].

Утримання піддослідних тварин та експерименти проводилися у відповідності до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» [162]. Комісія з біоетики Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського (протокол 62 від 11 січня 2021 року) порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявила.

2.2 Методи дослідження

2.2.1 Біохімічні методи дослідження

2.2.2.1 Визначення вмісту ТБК–активних продуктів

Принцип методу: в кислотному середовищі при високій температурі малоновий диальдегід вступає в реакцію з тіобарбітуровою кислотою, утворюючи забарвлений комплекс червоного кольору з максимумом поглинання при довжині хвилі 532 нм [85].

В центрифужні пробірки додавали по 1 мл H_2O та 1 мл 10 % гомогенату або 0,5 мл сироватки крові. Далі додавали 2 мл 30 % розчину ТХО, 5 моль/л 0,1 мл 5М $HC1$ і 2 мл розчину ТБК. Пробірки кипятили на водяній бані 15 хв, після чого охолоджували. Осад відділяли центрифугуванням при 3000 g впродовж 40 хв. Надосадову рідину зливали в чисті пробірки і фотометрували при 535 нм.

Вміст малонового диальдегіду розраховували, виходячи з коефіцієнта молярної екстинкції забарвленого комплексу, який дорівнює $1,56 \times 10^5 \text{ см}^{-1} \text{ м}^{-1}$ і виражали в мкмоль/л сироватки крові або мкмоль/кг тканини.

2.2.2.2 Визначення окиснювальної модифікації протеїнів (2,4 – динітрофенілгідразонів)

Принцип методу ґрунтується на здатності радикальних залишків аліфатичних амінокислот утворювати альдегідні й кетонні групи. Останні взаємодіють з 2,4-динітрофенілгідразином з утворенням 2,4-динітрофенілгідразонів, що мають характерний спектр поглинання. Альдегідо- і кетопохідні нейтрального характеру реєструють при 370 нм, основного характеру – при 430 нм [54].

У центрифужні пробірки додавали 0,8 мл 0,85 % розчину $NaCl$, 0,2 мл сироватки крові (або гомогенату тканини), 1 мл 0,1 М розчину 2,4-динітрофенілгідразину, розчиненого в хлоридній кислоті з молярною концентрацією 2 моль/л і 1 мл 10 % розчину трихлороцтової кислоти. В контрольні проби замість 2,4-динітрофенілгідразину додавали 1 мл 2 М розчину хлоридної кислоти. Проби інкубували 1 год при температурі 37 °С, а далі центрифугували 10 хв при частоті обертання 1100 g. Одержаний осад промивали тричі 5 %

розчином ТХО (по 5 мл), кожного разу ресуспендуючи осад скляною паличкою. До одержаного осаду додавали 5 мл 8 М розчину сечовини, витримували 5 хв у кип'ячій водянній бані до повного розчинення. Оптичну густину утворених динітрофенілгідразонів реєстрували при 370 і 430 нм проти контролю. Одночасно визначали в сироватці крові вміст протеїнів біуретовим методом.

Кількість 2,4-динітрофенілгідразонів розраховували за формулою:

$$A = 10^3 E / 21 \text{ с, де} \quad (2.1)$$

A - вміст 2,4-динітрофенілгідразонів в ммоль/г протеїну,

E - оптична густина проб,

C - вміст білків в 0,2 мл сироватки крові,

21 – коефіцієнт, який відповідає 1 ммоль/г

2.2.2.3 Визначення супероксиддисмутазної активності (ЕС 1.15.1.1).

Метод базується на здатності СОД конкурувати з нітросинім тетразолієм (НСТ) за супероксидні аніони. У результаті цієї реакції НСТ відновлюється з утворенням гідразинтетразолію. У присутності СОД відсоток відновлення НСТ зменшується [119].

Для визначення активності використовували гомогенат тканини, який отримували після 5-хвилинної обробки клітин у гіпоосмотичному буфері та центрифугування при 600 г упродовж 5 хв. У пробу, що містить 0,15 М фосфатний буфер додавали гомогенат, що містить 0,5 мг білка. Загальний об'єм проби становить 0,5 мл. До проби додавали 1 мл реагенту 1 (57 мкМ НСТ, 16 мкМ ФМС на 0,15 М фосфатному буфері з ЕДТА, рН=7,8). Одразу вимірювали оптичну густину проб за довжини хвилі 540 нм на спектрофотометрі. Потім до кожної проби додавали по 35 мкл реагенту 2 (98,5 мкМ НАДН на трис-ЕДТА буфері, рН=8,00, проби витримували за температури 30 °С та повторно визначали оптичну густину через 10 хв за тих же умов.

За формулою розраховували відсоток пригнічення ступеню відновлення НСТ у пробі:

$$\frac{E_1 - E_2}{E_2} \times 100 = \text{відсоток блокування відновлення НСТ} \quad (2.2)$$

E_2

де E_1 – оптична густина до додавання реагенту 2

E_2 – оптична густина після додавання реагенту 2

Активність ензиму визначали за калібрувальною кривою та виражали в умовних одиницях на хв на 1 мг протеїну.

2.2.2.4. Визначення каталазної активності (ЕС 1.11.1.6)

Принцип методу визначення каталазної активності ґрунтується на здатності пероксиду гідрогену утворювати з амоній молібдатом стійкий забарвлений комплекс жовтого кольору [77].

Дослідженню піддавали сироватку крові і тканини печінки, з яких на холоді готували 10 % гомогенат на 0,05 М трис-буфері. Реакцію запускали додаванням 0,1 мл сироватки чи гомогенату до 2 мл 0,03 % розчину пероксиду гідрогену. В холосту пробу замість досліджуваного матеріалу вносили 0,1 мл дистильованої води. Через 10 хв у пробі вносили 1 мл 4 % амоній молібдату для зупинки реакції. Інтенсивність утвореного забарвлення вимірювали на спектрофотометрі ULAB-108UA проти контрольної пробі, в яку замість 0,03 % розчину пероксиду гідрогену добавляли 2 мл дистильованої води.

Каталазну активність виражали в каталах і розраховували за формулою:

$$A = (E_x - E_d) \times V \times t \times k, \quad (2.3)$$

де A – активність каталази;

E_x – екстинкція холостої пробі,

E_d – екстинкція досліджуваного розчину;

t – час інкубації (с),

k – коефіцієнт молярної екстинкції пероксиду гідрогену, який дорівнює

$$22,2 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

2.2.2.5 Визначення вмісту церулоплазміну (ЕС 1.16.3.1)

Вміст церулоплазміну визначали за методом [27]. Принцип методу базується на здатності *p*-фенілендіаміну в присутності церулоплазміну окиснюватись з утворенням забарвлених сполук рожевого кольору. Кількість церулоплазміну пропорційна інтенсивності забарвлення.

Дослідженню піддавали сироватку крові. У дві пробірки вносили по 0,1 мл сироватки. В одну з них (контроль) для інактивації ензиму вносили 1 мл

0,5 % розчину гідроксиламіну солянокислого. В обидві пробірки додавали по 8 мл 0,4 М розчину ацетатного буферу (рН=5,5) і по 1 мл п-фенілендіаміну. Пробірки інкубували в термостаті при 37 °С впродовж 1 год. Потім у дослідну пробірку додавали 1 мл солянокислого гідразину. Всі проби витримували 30 хв при 4 °С і по закінченні визначали оптичну щільність дослідної проби проти контрольної на спектрофотометрі ULAB-108UA при 530 нм.

Розрахунок проводили за формулою:

$$C = E \times 87,5, \quad (2.4)$$

де С – вміст церулоплазміну в мг/л сироватки крові

Е – екстинкція проби

87,5 – коефіцієнт перерахунку у г/л

2.2.2.6 Визначення вмісту відновленого глутатіону

Для визначення вмісту відновленого глутатіону використовували метод, принцип якого полягає у взаємодії 5,5-дитіобіс (2-нітробензойної) кислоти (реактив Елмана) з вільними SH-групами відновленого глутатіону з утворенням тіонітрофенильного аніону жовтого кольору, кількість якого прямо пропорційна вмісту SH-груп [27].

До 0,2 мл сироватки крові або гомогенату печінки (1:10) додавали 1,6 мл H_2O_2 і 0,2 мл сульфосаліцилової кислоти. Центрифугували 15 хв при 3000 g, потім до 0,5 мл центрифугату додавали 2,5 мл 0,2 М трис-буферу (рН=8,4) і 0,05 мл 0,04 % розчину реактиву Елмана. В контрольну пробу замість досліджуваного матеріалу вносили 0,2 мл дистильованої води. Через 10 хв проби фотометрували на спектрофотометрі ULAB-108UA при 412 нм проти контролю.

Концентрацію відновленого глутатіону розраховували, виходячи з коефіцієнта молярної екстинкції для тіонітрофенильного аніону, який дорівнює 11400 $M^{-1}cm^{-1}$. Вміст відновленого глутатіону виражали в ммоль/л або ммоль/кг тканини.

2.2.2.7 Визначення еритроцитарного індексу інтоксикації

В основі методу лежить твердження про еритроцит як адсорбент, тобто здатність еритроцитарною мембраною поглинати та пропускати забарвлені

речовини [115].

В пробірку, що містить 1 мл 3,8 % розчину цитрату натрію, поміщали 4 мл цільної крові. Перемішували та відділяли еритроцити шляхом центрифугування впродовж 10 хв при 1100 g. Сироватку видаляли. Переносили 1 мл еритроцитарної маси в пробірку, що містить 3 мл метиленової синьки (0,025 %), виготовленої на фізрозчині. Перемішували та інкубували 10-12 хв при кімнатній температурі. Після цього центрифугували 10 хв при 1100 g, надосадову рідину відбирали і фотоколориметрували на ULAB-108UA при 630 нм проти фізіологічного розчину. Кількість поглинутого барвника (у %) вираховували за формулою:

$$A = 100 - C \times 100 / B, \quad (2.5)$$

де А – кількість поглинутого барвника (у %),

В – оптична густина вихідного розчину (метиленова синька) в одиницях екстинкції,

С – оптична густина розчину барвника після інкубації з еритроцитами (в од. екстинкції),

100 – частка щільності мембрани в нормі, %.

2.2.2.8 *Визначення вмісту молекул середньої маси*

Метод полягає у виділенні кислоторозчинної фракції молекул середньої маси з наступною детекцією десятикратно розведеної надосадової рідини при довжинах хвиль 254 та 280 нм [94].

До 0,5 мл сироватки крові додавали 4,5 мл 10 % розчину ТХО. Наступне центрифугування проводили при 1100 g впродовж 30 хв. Виділену фракцію в об'ємі 0,5 мл розводили дистильованою водою у співвідношенні 1:10 та визначали оптичну густина при довжині хвилі 254 та 280 нм проти дистильованої води на спектрофотометрі ULAB-108UA.

Результати виражали в одиницях, чисельно рівних показникам екстинкції ($E \times 2000$), та перераховували в ум.од/л.

2.2.2.9 *Визначення активності аланінамінотрансферази (ЕС 2.6.1.2)*

Принцип методу: внаслідок амінування 2-оксоглютарової кислоти L-аланіном, яке відбувається під дією аланінамінотрансферази, утворюються L-

глутамінова та піровиноградна кислоти. При взаємодії ПВК з 2,4-динітрофенілгідразином в лужному середовищі утворюються 2,4-динітрофенілгідразони, що мають високий коефіцієнт молярної екстинції, тому оптична щільність їх, яка реєструється на спектрофотометрі ULAB-108UA, прямопропорційна активності ензиму [235].

Для визначення активності АлАТ у дві пробірки наливали по 0,4 мл субстратно-буферного реактиву (фосфатний буфер, D, L-аланін та 2-оксоглютарова кислота). Пробірки витримували 3 хв при температурі 37 °С. В одну з них, яка була холостою пробою, додавали 0,4 мл 2,4-динітрофенілгідразину та 0,08 мл сироватки крові. В іншу (дослідна проба) вносили тільки 0,08 мл сироватки крові. Після цього обидві пробірки інкубували 60 хв при температурі 37 °С. В дослідну пробу після інкубації вносили 0,4 мл 2,4-динітрофенілгідразину.

Обидві пробірки витримували 20 хв при кімнатній температурі. Реакцію зупиняли, додаючи у всі проби 4 мл 0,4 N NaOH. Через 10 хв вимірювали оптичну густина дослідної проби проти холостої при $\lambda = 490-540$ нм.

Розрахунок активності ензиму проводили за калібрувальним графіком, побудованим за вмістом ПВК і виражали в мкмоль/(л·год).

2.2.2.9 Визначення активності аспаратамінотрансферази (ЕС 2.6.1.1)

Принцип методу: в результаті амінування 2-оксоглютарової кислоти L-аспарагіновою кислотою, яке проходить під дією аспаратаміно-трансферази, утворюються L-глутамінова і щавелево-оцтова кислоти. Остання самовільно декарбоксілюється з утворенням піровиноградної кислоти [173].

Визначення базується на вимірюванні оптичної густини 2,4-динітрофенілгідразонів 2-оксоглютарової та піровиноградної кислот у лужному середовищі. Оскільки гідразон піровиноградної кислоти має більш високий коефіцієнт молярної екстинції, спостерігається прямо пропорційна залежність оптичної густини реакційного розчину від активності ензиму.

Для визначення активності АсАТ в дві пробірки наливали по 0,4 мл субстратно-буферного реактиву (фосфатний буфер, D, L-аланін та 2-оксоглютарова кислота). Пробірки витримували 3 хв при температурі 37 °С, в одну з

них, яка була холостою пробою, додавали 0,4 мл 2,4-динітрофенілгідразину та 0,08 мл сироватки крові. В іншу (дослідна проба) вносили тільки 0,08 мл сироватки крові. Після цього обидві поробірки інкубували 60 хв при температурі 37 °С. В дослідну пробу після інкубації вносили 0,4 мл 2,4-динітрофенілгідразину. Обидві пробірки витримували 20 хв при кімнатній температурі. Реакцію зупиняли, додаючи в усі проби 4 мл 0,4 N NaOH.

Через 10 хв вимірювали оптичну густину дослідної проби проти холостої при $\lambda = 490-540$ нм. Розрахунок активності ензиму проводили за калібрувальним графіком, побудованим за вмістом ПВК і виражали в мкмоль/(л·год).

2.2.2.10 *Визначення активності лужної фосфатази (ЕС 3.1.3.1)*

Метод визначення активності лужної фосфатази ґрунтується на властивості ензиму гідролізувати ефірний зв'язок у β -гліцерофосфаті з відщепленням фосфатної кислоти. Фосфор визначають колориметричним методом за реакцією з молібденовим реактивом в присутності відновника ейконогену або аскорбінової кислоти. Продукт реакції – молібденовий синій, інтенсивність забарвлення якого прямопропорційна кількості фосфору в пробі характеризує активність ензиму [67].

У пробірки вносили 0,6 мл субстратно-буферного розчину, доводили до 37 °С, потім додавали 0,02 мл сироватки крові чи гомогенату печінки та інкубували 10 хв при температурі 37 °С. Додавали 0,6 мл окиснювального розчину і витримували 5 хв при кімнатній температурі. Колориметрували при довжині хвилі 500 нм в кюветі довжиною 10 мм проти холостої проби. Холосту пробу готували аналогічно дослідним, але сироватку (гомогенат) вносили перед колориметруванням. Розрахунок активності ензиму проводили за допомогою калібрувального графіку, побудованого для фенолу та виражали в нмоль/л год для сироватки крові та нмоль/ кг год для гомогенату печінки.

2.2.3 Імуноферментні методи дослідження

2.2.3.1 *Визначення вмісту інтерлейкіну-6*

Принцип роботи набору. У наборі "ІФА-ІЛ-6" А-8768 використано

"сендвіч"-варіант твердофазного імуноферментного аналізу з використанням моно- і поліклональних антитіл із різною етіотропною специфічністю до інтерлейкіну-6. Одні з них іммобілізовано на твердій фазі (внутрішня поверхня лунок), другі кон'юговані з біотином.

На першій стадії аналізу ІЛ-6, що міститься в калібрувальних та досліджуваних пробах, зв'язується з антитілами, іммобілізованими на внутрішній поверхні лунок. На другому етапі аналізу іммобілізований ІЛ-6 взаємодіє з кон'югатом (друге антитіло з біотином). Кількість зв'язаного кон'югату прямопропорційно кількості ІЛ-6 в досліджуваному зразку. На останній стадії аналізу в лунки вносили авідин-пероксидазу [155].

Під час інкубації з субстратною сумішшю відбувається фарбування розчину в лунках. Кількість зв'язаного кон'югату (стрептавідин з пероксидазою) визначається кольоровою реакцією з використанням субстрату пероксидази хрину – гідрогенпероксиду і хромогену – тетраметилбензидину. Інтенсивність жовтого забарвлення прямопропорційна вмісту ІЛ-6 в аналізованих зразках.

Після вимірювання оптичної щільності розчину в лунках на підставі каліброваного графіка розраховували вміст ІЛ-6 в аналізованих зразках у пг/мл.

2.2.3.2 Визначення вмісту інтерлейкіну-4

Принцип роботи набору. У наборі "ІФА-ІЛ-4" А-8754 використано "сендвіч"-варіант твердофазного імуноферментного аналізу із застосуванням моноклональних антитіл до ІЛ-4.

У лунках, при додаванні досліджуваного зразка сироватки крові під час першої інкубації відбувається зв'язування ІЛ-4 з моноклональними антитілами, іммобілізованими на внутрішній поверхні лунок планшета [205]. Незв'язаний матеріал видаляється відмиванням. Зв'язавшись ІЛ-4 взаємодіє під час другої інкубації з кон'югатом № 1 (біотинування антитіла до ІЛ-4). Незв'язаний кон'югат № 1 видаляється відмиванням. На третій стадії зв'язаний кон'югат № 1 взаємодіє при інкубації з кон'югатом № 2 (стрептавідин-пероксидаза хрину). Під час інкубації з розчином тетраметилбензидину відбувається фарбування розчину. Ступінь забарвлення прямопропорційна концентрації ІЛ-4 в аналізованих пробах.

Після вимірювання оптичної щільності розчину в лунках на підставі каліброваного графіка розраховували вміст ІЛ-4 в аналізованих зразках у пг/мл.

2.4 Методи статистичного аналізу

Обробка статистичних даних виконувалась за допомогою пакету програмного забезпечення SPSS-22 [123, 179, 210]. Розподіл даних аналізується за критерієм нормальності Колмогорова-Смірнова. Отримані значення мали параметричний розподіл, тому різниця між групами була проаналізована відповідно до t-критерію Ст'юдента та непараметричного критерію Вілкоксона для зв'язаних вибірок. Критерій χ^2 був використаний для оцінки різниці між категоріальними даними. Різниця значень ймовірності була $p \geq 0,95$ (рівень значимості P). Розбіжності вважалися вірогідними при $p \leq 0,05$. При проведенні кореляційного аналізу застосовували метод параметричної кореляції з визначенням лінійного коефіцієнта кореляції Пірсона (r) з подальшою перевіркою достовірності результату за допомогою критерію Ст'юдента. Від'ємне значення коефіцієнта вказувало на зворотний (негативний, від'ємний) зв'язок між досліджуваними явищами, додатне – на прямопропорційний (прямий, позитивний) зв'язок, а нульове значення – на його відсутність. За силою зв'язку кореляційну залежність вважали тісною (сильною) при $|r| = 0,70–0,99$, середньою – при $|r| = 0,30–0,69$, слабкою – при $|r| = 0,01–0,29$. Значимість коефіцієнта кореляції оцінювали за допомогою критерію Ст'юдента за вірогідності похибки p.

РОЗДІЛ 3

АКТИВНІСТЬ ОКИСНЮВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В ЩУРІВ ІЗ КОЛОРЕКТАЛЬНИМ РАКОМ, ЛІКОВАНИХ ГЕПАТОПРОТЕКТОРАМИ ПІСЛЯ ЦИТОСТАТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ

У розділі наведені результати досліджень особливостей перебігу вільнорадикальних процесів та стану антиоксидантної системи в щурів із хімічним канцерогенезом після застосування цитостатика Кселоди, а також за умов введення гепатопротектора Глутаргіну з метою усунення побічної дії цитостатика на печінку. З цією метою нами проводився ряд біохімічних досліджень для виявлення порушень у перебігу процесів вільнорадикального окиснення та активності ензимної та неензимної ланки антиоксидантної системи організму за умов змодельованого стану.

3.1 Активність процесів вільнорадикального окиснення в організмі щурів із індукованим ДМГ-канцерогенезом після застосування гепатопротекторів на тлі цитостатичної терапії

Науковцями виявлено зв'язок між онкологічними захворюваннями і процесами вільнорадикального окиснення (ВРО) [121]. Наростання процесів ВРО можуть бути причиною стрімкого розвитку канцерогенезу. ВР утворюються в результаті перекисного окиснення ненасичених жирних кислот із регулюванням фізичних властивостей біологічних мембран. З іншого боку, вільнорадикальне окиснення є універсальним патофізіологічним феноменом при багатьох патологічних станах, зокрема при розвитку пухлини [97].

З даних літератури відомо, що вільні радикали здатні не лише ініціювати рак, але й беруть участь в прогресії пухлинних клітин, підтримуючи ріст клітин, їхню інвазивність та метастатичний потенціал (за рахунок активації сигнальних шляхів) і порушення експресії генів росту та диференціювання [96].

Розвиток злоякісних пухлин, у тому числі колоректальних,

супроводжується оксидативним стресом внаслідок накопичення значної кількості АФО, які стимулюють процеси ПОЛ і порушують функціонування антиоксидантних захисних систем клітини [19]. Протікання реакцій ВРО в ліпідному субстраті сприяє утворенню різноманітних продуктів ПОЛ, які здатні гальмувати проліферативну активність клітин [97]. Одними із проміжних продуктів ПОЛ є продукти, які реагують з тіобарбітуровою кислотою, зміни їх вмісту в крові є маркерами активності процесів ліпопероксидації.

В експерименті нами досліджувались основні ланки окисно-відновного гомеостазу за умов розвитку злякисного процесу в товстій кишці, індукованого введенням 1,2-диметилгідрозин гідрохлориду.

За умов індукованого онкогенезу в сироватці крові виявлено збільшення вмісту ТБК-АП у 1-й місяць введення в 1,7 рази, на 2-й місяць – у 2 рази, на 3-й і 4-й місяці введення в 2,3 і 2,4 рази, 5-й і 6-й місяць введення в 2,9 та 3,3 рази, і на 7-й місяць введення даний показник вірогідно зростав у 3,5 рази ($p < 0,001$) порівняно з аналогічними показниками контрольної групи тварин (табл. 3.1).

Аналогічна тенденція до підвищення спостерігалася при визначенні вмісту ТБК-АП у гомогенаті печінки за умов індукованого онкогенезу (табл. 3.1). Даний показник вірогідно ($p \leq 0,05$) зростав на 1-й місяць експерименту в 1,2 рази, 2-й місяць в 1,3 рази, 3-й – в 1,6 рази, 4-й – в 1,8 рази; 5-й – у 2 рази до кінця експерименту (6-й і 7-й місяці введення ДМГ) підвищився у 2,4 і 2,6 рази відповідно.

Застосування цитостатика Кселоди впродовж 14 та 21 дня не призвело до зниження вмісту ТБК-АП, а навпаки спровокувало незначне зростання даного показника як у сироватці крові, такі в гомогенаті печінки уражених тварин. Вірогідне підвищення (на 22 %) даного показника відмічалось у сироватці крові тварин, лікованих 21 день Кселодою, порівняно до показника у тварин на 7-ий місяць ураження ДМГ.

У печінці уражених тварин, які протягом 21 дня отримували Кселоду, вміст ТБК-АП підвищився на 15 % щодо групи тварин, які протягом 7 місяців отримували тільки ДМГ (рис. 3.1).

Таблиця 3.1 – Динаміка вмісту ТБК-АП у сироватці крові та печінці щурів при диметилгідразинівому ураженні після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргіну ($M \pm m$; $n=72$)

Групи тварин / терміни ураження диметилгідразиніом	Сироватка крові (мкмоль/л)	Печінка (мкмоль/кг)
Контрольна група	2,60±0,20	10,33±0,34
1 місяць ураження	4,41±0,10*	12,47±0,33*
2 місяці ураження	5,11±0,09*	13,55±0,24*
3 місяці ураження	5,88±0,11*	16,55±0,35*
4 місяці ураження	6,35±0,17*	18,32±0,41*
5 місяців ураження	7,52±0,12*	19,54±0,38*
6 місяців ураження	8,66±0,12*	25,28±0,71*
7 місяців ураження	9,18±0,11*	27,19±0,80*
7 місяців ураження + Кселода (14 днів)	9,53±0,10	28,27±0,14
7 міс ураження +Кселода+Глутаргін (14 днів)	8,21±0,33 ^{&}	19,35±0,81 ^{&}
7 місяців ураження + Кселода (21 день)	9,75±0,10 [#]	28,75±0,43
7 міс ураження +Кселода+Глутаргін (21 день)	5,34±0,15 ^{&}	15,90±0,75 ^{&}

Примітка. Тут і в наступних таблицях розділу * – вірогідні зміни між показниками тварин контролю та ураженими диметилгідразиніом; # – вірогідні зміни між показниками уражених тварин і тваринами, які після ураження канцерогеном піддавались дії цитостатика Кселоди; & - вірогідні зміни між показниками уражених канцерогеном тварин на тлі введення цитостатика Кселоди, та ураженими тваринами, які отримували Глутаргін з метою корекції.

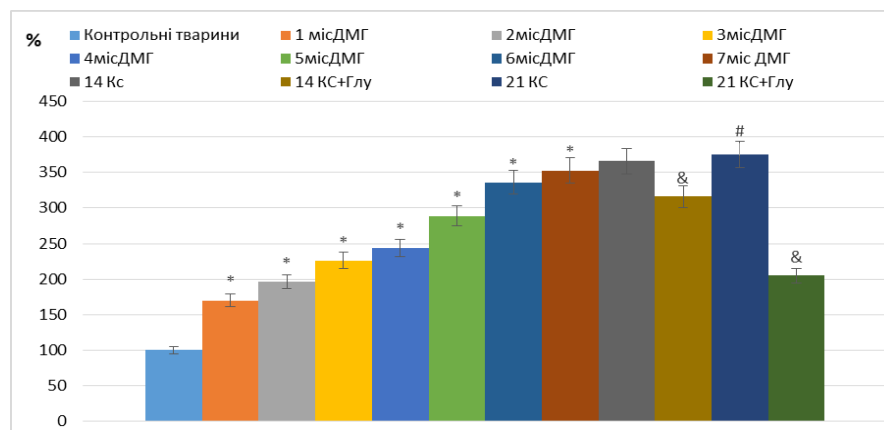


Рисунок 3.1 – Вміст ТБК-АП у печінці щурів при диметилгідразинівому ураженні після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргіну, %

Примітка. Тут і на наступних рисунках розділу* - вірогідні зміни між показниками тварин контролю та ураженими диметилгідразиніом; # - вірогідні зміни між показниками уражених тварин і тваринами, які після ураження канцерогеном піддавались дії цитостатика Кселоди; & - вірогідні зміни між показниками уражених канцерогеном тварин на тлі введення цитостатика Кселоди, та ураженими тваринами, які отримували Глутаргін з метою корекції.

У щурів із індукованим канцерогенезом, яким на тлі цитостатичної терапії застосовували гепатопротектор Глутаргін, вміст продуктів ліпопероксидації вірогідно ($p \leq 0,05$) знижувався у сироватці крові та печінці.

Після 14 та 21 дня застосування Глутаргіну даний показник знизився в 1,2; 1,8 раза у сироватці крові та в 1,5; 1,8 раза у печінці дослідних тварин порівняно з групою щурів, які даний препарат не отримували.

Отже, застосування Глутаргіну виявилось ефективним щодо пригнічення активності процесів ліпопероксидації в організмі щурів з експериментальним канцерогенезом після лікування цитостатиком Кселодою. Це підтверджується зниженням вмісту ТБК-АП як у сироватці крові, так і в печінці щурів, лікованих гепатопротектором.

Відомо, що АФО, що генеруються в процесі метаболізму ксенобіотиків, зумовлюють не лише пероксидацію ліпідів, але й окиснювальну модифікацію протеїнів (ОМП) [54, 76, 92].

Збільшення інтенсивності впливу АФО викликає посилення процесів окислення біологічних молекул і може призводити до пошкодження клітин і тканин, що імовірно, грає важливу роль в патогенезі розвитку раку. Протеїни плазми, які зазнали окислювальної деструкції, мають тривалий період розпаду в порівнянні з продуктами перекисного окислення ліпідів, що робить їх перспективним маркером інтенсивності вільнорадикального окислення [82, 105].

Процеси окислення протеїнів і ліпідів при різних типах ураження можуть мати свої особливості, проте, їх характер і вираженість за онкопатології практично не вивчені. На відміну від продуктів пероксидації ліпідів, карбонільні похідні протеїнів плазми крові набагато стабільніші, більш специфічні, що робить їх зручним маркером інтенсивності окисного стресу і відкриває можливість використання в діагностиці та прогнозуванні розвитку патології. Зважаючи на це, доцільним було дослідити ОМП у здорових щурів та щурів із змодельованим онкопроцесом.

Результати проведених досліджень свідчать, що інтенсивність процесів

ОМП у білих щурів, яким моделювали експериментальний канцерогенез впродовж семи місяців вірогідно підвищувалась у всі терміни спостереження (табл. 3.2).

Таблиця 3. 2 – Вміст продуктів окисної модифікації протеїнів у сироватці крові щурів (мкмоль/г протеїну) при експериментальному канцерогенезі після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргіну ($M \pm m$; $n=72$)

Групи тварин / терміни ураження диметилгідразином	2,4-ДНФГ ₃₇₀	2,4-ДНФГ ₄₃₀
Контрольна група	0,267±0,014	0,412±0,014
1 місяць ураження	0,395±0,010*	0,525±0,018*
2 місяці ураження	0,542±0,023*	0,573±0,016*
3 місяці ураження	0,675±0,024*	0,655±0,015*
4 місяці ураження	0,705±0,023*	0,773±0,013*
5 місяців ураження	0,832±0,022*	0,876±0,010*
6 місяців ураження	1,038±0,034*	0,953±0,013*
7 місяців ураження	1,138±0,036*	1,028±0,032*
7 місяців ураження + Кселода (14 днів)	1,343±0,025 [#]	1,375±0,022 [#]
7 міс ураження +Кселода+Глутаргін (14 днів)	0,672± 0,022 ^{&}	0,863± 0,023 ^{&}
7 місяців ураження + Кселода (21 день)	1,492±0,019 [#]	1,547±0,031 [#]
7 міс ураження +Кселода+Глутаргін (21 день)	0,593±0,020 ^{&}	0,767±0,019 ^{&}

У щурів з індукованим ДМГ канцерогенезом прогресуюче підвищувався у сироватці крові вміст продуктів ОМП₃₇₀ нейтрального характеру протягом усього експерименту і в кінці дослідження (7 місяців ураження ДМГ) в 4,3 раза перевищував рівень щурів контрольної групи.

Вміст похідних основного характеру 2,4-ДНФГ₄₃₀ аналогічно перевищував відповідний показник контрольної групи впродовж усіх термінів дослідження. Особливо вираженим було зростання вмісту ОМП₄₃₀ основного характеру ($p \leq 0,05$) на 5-й (в 2,1 раза), 6-й (2,3 раза) та 7-й (2,5 раза) місяці моделювання канцерогенезу.

Отримані нами дані вказують на те, що, з одного боку, відбувається підвищення чутливості протеїнів до окиснювальної модифікації в динаміці розвитку онкопроцесу, з іншого – на зниження швидкості їх деградації шляхом протеолізу. Це може бути наслідком зміни структурної організації протеїнових молекул, порушенням співвідношення металів зі змінною валентністю, а також результатом зниження активності компонентів першої ланки антиоксидантної

системи організму.

Застосування цитостатика Кселоди впродовж 14 та 21 дня призвело до ще більшого зростання активності процесів ОМП й утворення альдегідо-та кетопохідних нейтрального та основного характеру у сироватці крові щурів зі змодельованим експериментальним канцерогенезом (табл. 3.2).

Застосування з метою корекції змін, викликаних хімічним канцерогеном після введення Кселоди, гепатопротектора Глутаргіну призвело до стабілізації та наближення до контрольного рівня вмісту 2,4-ДНФГ нейтрального та основного характеру. Так, після 14-ти денного введення Глутаргіну вміст 2,4-ДНФГ₃₇₀ і 2,4-ДНФГ₄₃₀ у сироватці крові знизився в 2 рази та 1,5 рази відповідно щодо тварин, уражених ДМГ та лікованих Кселодою. Ще більш виражене зниження досліджуваного нами показника спостерігалось після введення Глутаргіну впродовж 21 дня (у 2,5 та 2,0 рази відповідно). Аналогічна тенденція до підвищення спостерігалася при визначенні вмісту 2,4-ДНФГ₃₇₀ і 2,4-ДНФГ₄₃₀ у гомогенаті печінки за умов індукованого онкогенезу впродовж всього експерименту (табл. 3.3). До кінця експерименту (7-й місяць введення ДМГ) вміст 2,4-ДНФГ₃₇₀ і 2,4-ДНФГ₄₃₀ у печінці підвищився у 2,5 і 2,1 рази відповідно.

Таблиця 3.3 – Вміст продуктів окисної модифікації протеїнів у гомогенаті печінки (мкмоль/г протеїну) щурів при експериментальному канцерогенезі після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргіну (M±m; n=72)

Групи тварин / терміни ураження диметилгідразином	2,4-ДНФГ ₃₇₀	2,4-ДНФГ ₄₃₀
Контрольна група	0,401±0,009	0,498±0,009
1 місяць ураження	0,467±0,010	0,643±0,017*
2 місяці ураження	0,550±0,012*	0,682±0,022*
3 місяці ураження	0,723±0,013*	0,707±0,013*
4 місяці ураження	0,785±0,013*	0,752±0,015*
5 місяців ураження	0,853±0,015*	0,987±0,033*
6 місяців ураження	0,911±0,015*	1,025±0,031*
7 місяців ураження	0,986±0,016*	1,062±0,015*
7 місяців ураження + Кселода (14 днів)	1,112±0,018 [#]	1,196±0,015 [#]
7 міс ураження +Кселода+Глутаргін (14 днів)	0,755±0,009 ^{&}	0,985±0,008 ^{&}
7 місяців ураження + Кселода (21 день)	1,198±0,019 [#]	1,223±0,019 [#]
7 міс ураження +Кселода+Глутаргін (21 день)	0,741±0,009 ^{&}	0,924±0,008 ^{&}

Вірогідне підвищення ($p \leq 0,05$) даних показників відмічалось у гомогенаті печінки тварин, лікованих цитостатиком Кселодою впродовж 14 та 21 дня, порівняно до показників у тварин на 7-ому місяці ураження ДМГ. На 14-ий день лікування Кселодою вміст ОМП нейтрального характеру у печінці підвищився на 27 % щодо нелікованих тварин, на 21 день застосування Кселоди – на 33 %, що підтверджує негативний вплив даного цитостатика на печінку.

У щурів із індукованим канцерогенезом, яким на тлі цитостатичної терапії застосовували гепатопротектор Глутаргін, вміст продуктів ОМП вірогідно ($p \leq 0,05$) знижувався у гомогенаті печінки. Після 14 та 21 дня застосування глутаргіну дані показники знижувались на 89 % та 113 % (2,4-ДНФГ₃₇₀) та на 42 % та 61 % (2,4-ДНФГ₄₃₀) відповідно у печінці досліджуваних нами тварин порівняно з групою тварин, які даний препарат не отримували (рис. 3.2).

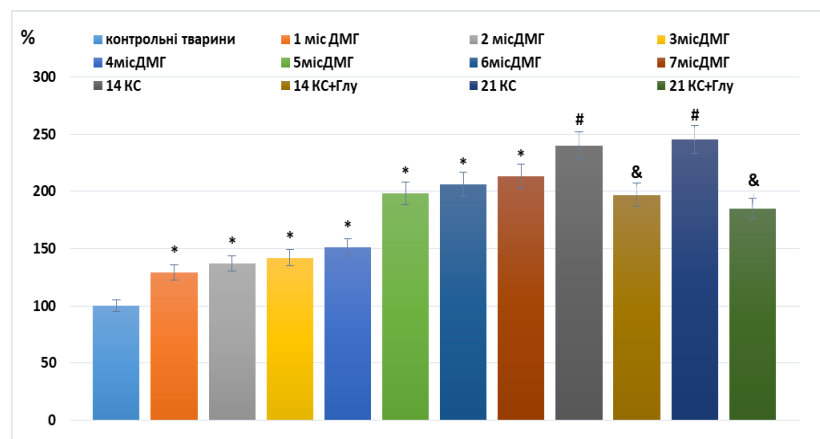


Рисунок 3.2 – Вміст 2,4-ДНФГ₄₃₀ у гомогенаті печінки щурів при експериментальному канцерогенезі після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргіну, %

Отже, використання цитостатичної терапії посилює перебіг окиснювальних процесів в організмі за умов індукованого канцерогенезу, що свідчить про накопичення в організмі вторинних ендогенних токсинів, які поглиблюють ендогенну інтоксикацію. Все це вказує на прояви побічного ефекту від застосованого нами препарату Кселоди.

Застосований гепатопротектор Глутаргін призвів до вираженого

зниження активності процесів ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів в організмі щурів з ДМГ-індукованим канцерогенезом, що свідчить про його антиоксидантні та гепатозахисні властивості.

3.2 Дослідження показників антиоксидантної системи у щурів із експериментальним канцерогенезом після застосування гепатопротекторів на тлі цитостатичної терапії

За умов активації процесів ПОЛ, найважливішою є функціональна активність внутрішньоклітинних захисних систем, до яких належить система антиоксидантного захисту, представлена комплексом неензимних антиоксидантів і спеціалізованих ензимів-антиоксидантів [194].

Загальновідомо, що будь-який патологічний процес відбувається на тлі утворення АФО та інтенсифікації вільнорадикального окиснення біосубстратів. З інтенсивністю процесів ПОЛ і нагромадженням токсичних перекисних продуктів (перекиси жирних кислот, альдегідів, кетонів тощо), які викликають зниження активності захисних сил організму, пов'язана активність антиоксидантних ензимів [195, 197]. Активація процесів ліпопероксидації та накопичення в організмі проміжних та кінцевих продуктів цього процесу викликає зміни у функціонуванні системи антиоксидантного захисту [189].

Супероксиддисмутаза належить до найважливіших ензимів антиоксидантної системи. Підтверджено той факт, що активність СОД пов'язана з інтенсивністю ПОЛ і залежить від накопичення продуктів ПОЛ та від виду та гістогенезу пухлин, а також від стадії їхнього прогресування [181].

Отже зниження, так і підвищення активності СОД є причиною розвитку патологічних процесів. У першому випадку внаслідок недостатнього захисту від АФО, у другому – в результаті посилення цитотоксичної дії пероксиду гідрогену, що утворюється в реакції дисмутації супероксиду [154].

Нами експериментально встановлено, що при розвитку аденокарциноми товстої кишки СОД активність в тканині печінки вірогідно ($p \leq 0,05$) підвищується у перші місяці введення ДМГ, тоді як починаючи з 6 місяця

знижується. Найнижча СОД активність спостерігалась на 7-й місяць введення канцерогену й становила ($0,21 \pm 0,006$), тоді як контрольний показник становив ($0,45 \pm 0,01$), що було в 2,1 раза нижчим від норми (табл. 3.4).

Таблиця 3.4 – Динаміка супероксиддисмутазної активності у печінці щурів при ДМГ-ураженні після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргіну ($M \pm m$; $n=72$)

Групи тварин / терміни ураження диметилгідразином	Печінка (пит.од./мг)
Контрольна група	$0,45 \pm 0,01$
1 місяць ураження	$0,64 \pm 0,05^*$
2 місяці ураження	$0,97 \pm 0,02^*$
3 місяці ураження	$1,10 \pm 0,01^*$
4 місяці ураження	$0,62 \pm 0,04^*$
5 місяців ураження	$0,50 \pm 0,01^*$
6 місяців ураження	$0,39 \pm 0,01^*$
7 місяців ураження	$0,21 \pm 0,006^*$
7 місяців ураження + Кселода (14 днів)	$0,15 \pm 0,01^\#$
7 місяців ураження + Кселода+Глутаргін (14 днів)	$0,24 \pm 0,02^\&$
7 місяців ураження + Кселода (21 день)	$0,14 \pm 0,01^\#$
7 місяців ураження + Кселода+Глутаргін (21 день)	$0,32 \pm 0,03^\&$

Застосування цитостатичної терапії впродовж 14 та 21 дня призвело до ще більшого зниження СОД активності (в 1,4 та 1,5 раза відповідно), порівняно з групою тварин з ДМГ- ураженням.

Зростання в клітині концентрації ВР обумовлює зниження активності СОД внаслідок необоротного відновлення міді в активному центрі або внаслідок окиснення в ньому функціональних груп, зокрема тіолових [119, 120]. Також цілком ймовірно, що введення ДМГ та препаратів цитостатичної терапії призводить до конформаційних змін молекули ензиму, що в свою чергу приводить до втрати ним своїх функціональних властивостей. Таке зниження СОД активності у кінцеві терміни експерименту свідчить про виснаження компенсаторно-захисних систем організму до кінця дослідження та підтверджує ураження печінки, яка неспроможна синтезувати de novo ензими,

що призводить до зниження активності останніх. Це і відмічено у наших експериментальних дослідженнях.

Застосований нами гепатопротектор Глутаргін проявив позитивний вплив на даний показник. Уже протягом 14 днів його використання досліджуваний показник вірогідно ($p \leq 0,05$) підвищився та на 20 % перевищував рівень активності ензиму у печінці уражених ДМГ щурів, які отримували цитостатичну терапію. У кінцевому терміні експерименту (7 місяців ураження ДМГ та 21 день застосування Кселоди та гепатопротектора Глутаргіну) СОД активність у печінці підвищилась на 40 % щодо тварин з колоректальним раком та лікованих цитостатиком (рис. 3.3).

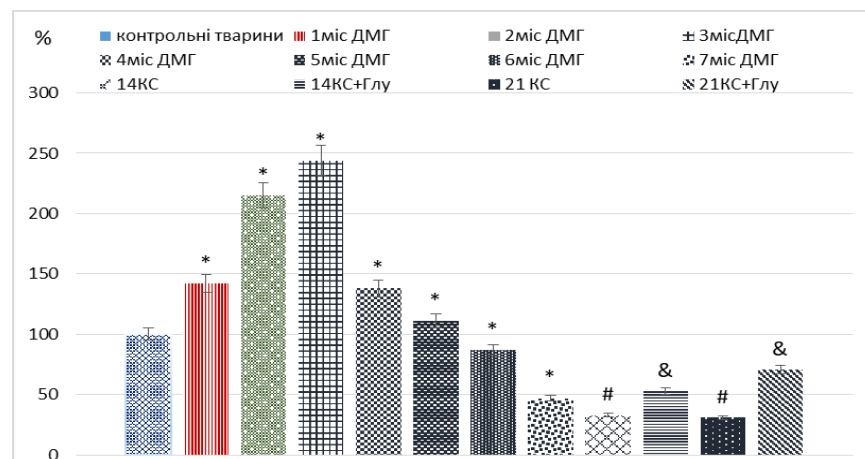


Рисунок 3.3 – Динаміка супероксиддисмутазної активності у печінці щурів при ДМГ-ураженні після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргіну, %

Отже, при вивченні СОД активності у печінці відмічається коливальний характер її змін. Перші 5 місяців розвитку експериментального канцерогенезу активність ензиму перевищує рівень показників щурів із канцерогенезом, що засвідчує його активне включення у процес знешкодження вільних радикалів. У подальшому, активність ензиму вірогідно знижується, що, на нашу думку, зумовлено виснаженням захисно-компенсаторних сил організму. Застосований цитостатик призвів до ще більшого зниження даного показника, що підтверджує токсичний вплив Кселоди саме на печінку, де синтезується досліджуваний нами ензим. Це і спонукало нас до застосування в даних умовах

гепатопротектора глутаргіну, який проявив позитивний вплив на СОД активність.

У щурів після ураження 1,2-ДМГ нами досліджено вміст протеїну з ензимною активністю ЦП, який бере участь у знешкодженні АФО на початку зародження вільнорадикального ланцюга. Він має окиснювальну активність; у плазмі крові контролює вивільнення запасів заліза, активує окиснення аскорбінової кислоти, норадреналіну, серотоніну та інших сполук [74].

Церулоплазмін є протеїном гострої фази розвитку захворювання. Підвищення його рівня спостерігається у хворих при різних злоякісних новоутвореннях, і його зміна показує ефективність лікування – чим менше рівень церулоплазміну, тим успішніше хіміотерапія та променева терапія онкологічного захворювання [91].

При ДМГ-індукованому канцерогенезі вміст ЦП (табл. 3.5) у сироватці крові щурів вірогідно зростає, починаючи з 1-го, 2-го, 3-го місяця спостереження в 1,7; 2,6 і 3,9 раза відповідно.

Таблиця 3.5 – Динаміка вмісту церулоплазміну у сироватці крові щурів при ДМГ-ураженні після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргіну ($M \pm m$; $n=72$)

Групи тварин / терміни ураження диметилгідразином	Сироватка (мг/л)
Контрольна група	1,62±0,09
1 місяць ураження	2,72±0,08*
2 місяці ураження	4,24±0,09*
3 місяці ураження	6,36±0,10*
4 місяці ураження	8,23±0,03*
5 місяців ураження	12,51±0,05*
6 місяців ураження	6,95±0,06*
7 місяців ураження	7,17±0,08*
7 місяців ураження + Кселода (14 днів)	10,60±0,05 [#]
7 місяців ураження + Кселода+Глутаргін (14 днів)	4,31±0,09 ^{&}
7 місяців ураження + Кселода (21 день)	10,62±0,05 [#]
7 місяців ураження + Кселода+Глутаргін (21 день)	4,08±0,08 ^{&}

Найвищого значення вміст ЦП в уражених тварин досяг на 5 місяць дослідження (перевищив рівень контролю в 7,7 раза) ($p \leq 0,05$). Наприкінці

експерименту (на 7 місяць дослідження) даний показник дещо знизився, але був вищим за норму в 4,3 раза.

Застосування цитостатика Кселоди впродовж 14 та 21 дня призвело до зростання вмісту ЦП у 1,5 раза відносно рівня ензиму в тварин на 7-ий місяць ураження.

Застосований гепатопротектор Глутаргін проявив позитивний вплив на вміст ЦП у сироватці крові. Уже впродовж 14 днів його використання досліджуваний показник вірогідно ($p \leq 0,05$) знизився в 2,5 раза відносно аналогічного показника у групі уражених ДМГ щурів, які отримували цитостатичну терапію. У кінцевому терміні експерименту (7 місяців ураження ДМГ та 21 день застосування Кселоди та гепатопротектора глутаргіну) вміст ЦП знизився в 2,6 раза щодо тварин з колоректальним раком та лікованих цитостатиком.

Таким чином, вміст ЦП вірогідно знижувався у сироватці крові щурів з колоректальним раком, які на тлі цитостатичної терапії, отримували гепатопротектор глутаргін, що засвідчує антиоксидантні властивості останнього.

Ми дослідили каталазну активність в умовах експериментального онкогенезу, так як даний ензим бере участь у знешкодженні гідрогену пероксиду у термінальній стадії вільнорадикального процесу. Біологічна роль цього ензиму полягає в деградації H_2O_2 , що утворюється в клітинах у результаті дисмутації супероксиду та забезпеченні ефективного захисту клітинних структур від руйнування під дією H_2O_2 [57, 77].

При ДМГ-індукованому канцерогенезі каталазна активність у сироватці крові та тканині печінки вірогідно ($p \leq 0,05$) знижувалась на 1-й та 2-й місяць введення, на 3-й місяць – у 2,4 і 1,9 раза, на 4-й місяць – у 2,9 і 2,2 раза, на 5-й місяць – у 2,4 і 2,5 раза відповідно, на 6-й місяць введення ДМГ у 2,4 і 4,1 раза, а також на 7-й місяць моделювання онкопроцесу в 2,3 і 2,9 раза відповідно порівняно з аналогічним показником у групі контрольних тварин (табл. 3.6).

Застосування цитостатика Кселоди експериментальним тваринам з ДМГ-ураженням призвело до ще більшого зниження даного показника у сироватці

крові та тканині печінки, на що вказують результати досліджень, наведені у таблиці 3.6. Після 14-ти та 21-ти денного застосування Кселоди активність ензиму знизилась у сироватці крові, що може свідчити про гепатотоксичний вплив застосованого нами цитостатика на печінку, так як саме в цьому органі проходить синтез ензиму та основна його маса локалізується в гепатоцитах. У печінці спостерігались аналогічні зміни ензимної активності, яка до кінця експерименту знизилась у 4 рази щодо норми (табл. 3.6).

Виявлена гепатотоксичність цитостатичної терапії зумовила застосування гепатопротекторних засобів за даної патології. Відмічено підвищення каталазної активності у сироватці крові щурів у 1,7 раза, у печінці – в 2,2 раза щодо групи тварин, у яких змодельований канцерогенез на тлі застосування цитостатика Кселоди протягом 21 дня (табл. 3.6).

Таблиця 3.6 – Динаміка каталазної активності у сироватці крові та печінці щурів при диметилгідразиновому ураженні після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргіну ($M \pm m$; $n=72$)

Групи тварин / терміни ураження диметилгідразином	Сироватка крові (мккат/л)	Печінка (мккат/кг)
Контрольна група	1,41±0,02	2,03±0,04
1 місяць ураження	1,30±0,01*	1,52±0,02*
2 місяці ураження	1,24±0,02*	1,34±0,01*
3 місяці ураження	0,59±0,02*	1,05±0,01*
4 місяці ураження	0,48±0,03*	0,93±0,02*
5 місяців ураження	0,60±0,02*	0,81±0,02*
6 місяців ураження	0,59±0,02*	0,49±0,01*
7 місяців ураження	0,62±0,04*	0,69±0,02*
7 місяців ураження + Кселода (14 днів)	0,45±0,02 [#]	0,62±0,03
7 місяців ураження + Кселода+Глутаргін (14 днів)	0,60±0,03 ^{&}	0,90±0,05 ^{&}
7 місяців ураження + Кселода (21 день)	0,45±0,02 [#]	0,51±0,03 [#]
7 місяців ураження + Кселода+Глутаргін (21 день)	0,76±0,04 ^{&}	1,10±0,04 ^{&}

Окрім, антиоксидантних ензимів у захисті клітин від вільних радикалів бере участь неензимна ланка антиоксидантів, однією з яких є глутатіонова

система. До її складу входить глутатіон і ензими, що каталізують реакції його зворотнього перетворення (окиснення або відновлення). Участь SH-груп та пов'язаних із ним систем у механізмах біотрансформації та детоксикації можна розглядати як один із загальних механізмів, що визначають стійкість організму до негативної дії токсину [66].

Аналіз літератури свідчить про те, що рівні ВГ, активності глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази (ензимів синтезу та катаболізму ВГ) можуть використовуватись як критерії оцінки негативної дії токсинів різної хімічної природи [72].

Глутатіон виконує в організмі тварин багатогранні та дуже важливі функції: бере участь у знешкодженні ксенобіотиків; захищає від активних кисневих сполук; підвищує резистентність клітин до негативного впливу стресфакторів; відновлює та ізомеризує дисульфідні зв'язки; виконує коензимні функції [78].

В умовах ДМГ-індукованого онкогенезу протягом 3-ох місяців спостерігалось підвищення вмісту ВГ у сироватці крові щурів. До кінця 3-ого місяця даний показник на 21,6 % перевищував рівень контролю. Надалі до кінця експерименту вміст ВГ прогресуюче знижувався й до кінця експерименту (7 місяців) був нижче норми на 45,6 % (табл. 3.7).

Використаний нами препарат Кселода призвів до ще більшого зниження показника неензимної ланки глутатіонової системи. Введення даного засобу протягом 14 та 21 дня щурам з онкопроцесом викликало зниження вмісту ВГ до 48,0 %.

Відомо, що синтез компонентів глутатіонової системи відбувається у печінці, звідси, зниження одного з її компонентів може свідчити про глибокі порушення синтезувальної функції даного органа й бути проявом побічної дії застосованого цитостатика [11, 63].

З метою усунення побічної дії цитостатичної терапії на печінку нами був використаний гепатопротектор Глутаргін. Виявилось, що даний засіб позитивно

впливав на вміст ВГ, збільшуючи його на 14,4 % після 14-денного застосування і на 29,6 % - після 21-денного введення в уражений організм.

Таблиця 3.7 – Динаміка вмісту відновленого глутатіону в сироватці крові та печінці щурів при диметилгідразиновому ураженні після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргіну ($M \pm m$; $n=72$)

Групи тварин / терміни ураження диметилгідразином	Сироватка крові, ммоль/л	Печінка, ммоль/кг
Контрольна група	1,25±0,04	1,42±0,04
1 місяць ураження	1,35±0,04	1,52±0,05
2 місяці ураження	1,40±0,03	1,65±0,05*
3 місяці ураження	1,52±0,04*	1,76±0,05*
4 місяці ураження	0,96±0,03*	1,00±0,02*
5 місяців ураження	0,85±0,02*	0,88±0,02*
6 місяців ураження	0,74±0,02*	0,80±0,02*
7 місяців ураження	0,68±0,01*	0,70±0,01*
7 місяців ураження + Кселода (14 днів)	0,60±0,01 [#]	0,62±0,01 [#]
7 місяців ураження + Кселода+Глутаргін (14 днів)	0,78±0,02 ^{&}	0,85±0,02 ^{&}
7 місяців ураження + Кселода (21 день)	0,60±0,01 [#]	0,60±0,01 [#]
7 місяців ураження + Кселода+Глутаргін (21 день)	0,97±0,02 ^{&}	1,10±0,03 ^{&}

Аналогічні зміни відмічено в печінці щурів, уражених впродовж 7 місяців ДМГ. Впродовж перших трьох місяців вміст ВГ у печінці підвищувався, що може свідчити про активне включення даного антиоксиданта у процес знешкодження вільних радикалів, які утворилися в ураженому канцерогеном організмі. У наступні терміни дослідження даний показник вірогідно ($p \leq 0,05$) знижувався і досяг рівня 49,1 % щодо контрольного рівня на 7-ий місяць експерименту (рис. 3.4).

Застосований цитостатик призвів до ще більш вираженого зниження вмісту ВГ (через 21 день від початку його використання показник знизився до 42,4 %) у печінці тварин з індукованим ДМГ канцерогенезом. Після введення в організм щурів даної групи глутаргіну, через 14 днів його застосування вміст ВГ підвищився на 16,3 %, через 21 день – на 35,0 %.

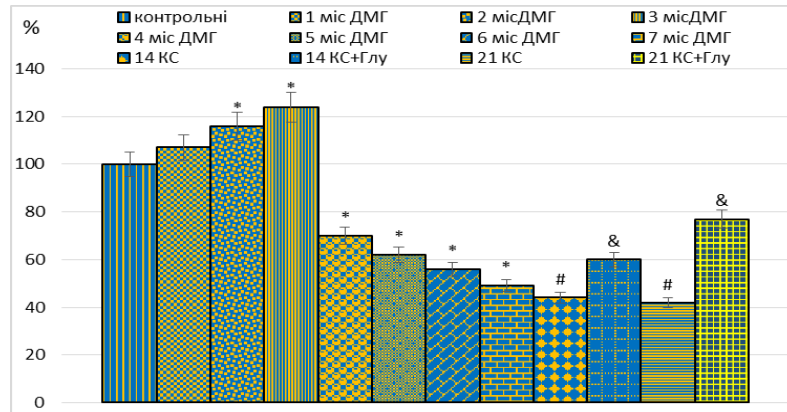


Рис унок3.4 – Вміст відновленого глутатіону в печінці щурів при диметилгідразиновому ураженні після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргіну , %

Експериментальні дані з вивчення активності неензимної ланки глутатіонової системи свідчать про позитивний вплив глутаргіну на показники антиоксидантного захисту в ураженому організмі, що проявляється підвищенням вмісту відновленого глутатіону як у сироватці крові, так і в печінці щурів, уражених диметилгідразином та після застосування цитостатика Кселоди.

Таким чином, дослідження показників антиоксидантної системи у щурів за ДМГ ураження показало зміну їх активності протягом усього дослідження. Застосування цитостатика Кселоди призвело до більш виражених змін у їх активності, що підтвердило побічний вплив засобу на печінку та спонукало нас до використання за даних умов гепатопротектора Глутаргіну.

Отримані результати дозволяють зробити наступні висновки:

1. За умов індукованого ДМГ-канцерогенезу в організмі розвивається окиснювальний стрес, на що вказує прогресуюче збільшення у сироватці крові та печінці вмісту проміжних продуктів ліпопероксидації – ТБК-активних продуктів. Паралельно відмічено підвищення вмісту 2,4-динітрофенілгідразонів як нейтрального, так і основного характеру в досліджуваних тканинах уражених тварин. Все це вказує на активацію вільнорадикальних процесів в організмі щурів, уражених 1,2-диметилгідразином, та розвитку окиснювального

стресу за даних умов.

2. В умовах хімічно індукованого канцерогенезу встановлено порушення стану антиоксидантної рівноваги за рахунок накопичення продуктів ліпопероксидації, зниження активностей антиоксидантних ензимів, зокрема супероксиддисмутази та каталази.

3. Встановлено, що застосування з метою лікування цитостатичного препарату Кселода призводить до ще більшої активації окиснювального стресу та дисбалансу антиоксидантної системи білих щурів в умовах змодельованого онкопроцесу, що вказує на побічну гепатотоксичну дію даного препарату та потребує додаткового введення в організм гепатопротекторних засобів.

4. Застосований гепатопротектор Глутаргін, з метою усунення негативного впливу на печінку цитостатика Кселоди, проявив позитивний вплив на досліджувані показники, наближаючи їх до рівня норми, що дозволяє включити його у загальні схеми лікування хворих із онкопатологією.

Результати досліджень, наведені в даному розділі, опубліковані в наступних наукових працях [34, 35, 36, 165].

РОЗДІЛ 4

ЗМІНИ ПРОНИКНОСТІ КЛІТИННИХ МЕМБРАН ТА СИНДРОМ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ В ОРГАНІЗМІ ПІДДОСЛІДНИХ ТВАРИН ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ХІМІЧНОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗУ ПІСЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ ЦИТОСТАТИКІВ ТА КОРЕКЦІЇ ГЕПАТОПРОТЕКТОРОМ ГЛУТАРГІН

У даному розділі наведені результати досліджень особливостей перебігу мембранодеструктивних та цитолітичних процесів у щурів із хімічним канцерогенезом після застосування цитостатика Кселоди, а також за умов введення гепатопротектора Глутаргін. З цією метою нами проводився ряд біохімічних досліджень для підтвердження змін активності цитолітичних ензимів та ендогенної інтоксикації, проникності клітинних мембран і розвитку запалення в тканинах організму за умов змодельованого стану.

4.1 Зміни проникності клітинних мембран в організмі щурів з колоректальним раком та після застосування цитостатиків та гепатопротекторів

Введення в організм щурів 1,2-ДМГ протягом 7-ми місяців призводить до розвитку хронічної неопластичної інтоксикації, що було показано багатьма авторами [84, 102, 145, 198, 211]. Значна кількість утворених ендогенних токсинів чинить деструктивний вплив на клітинні мембрани. Це підтверджується активацією цитолітичних процесів в організмі щурів, на що вказує активність мембранозалежних ензимів у сироватці крові.

Із літератури відомо, що більшість цитостатичних препаратів можуть викликати побічні ефекти в організмі, одним із проявів яких є гепатотоксичність [111, 124]. Найефективніше ступінь ураження клітинних мембран відображається співвідношенням активності внутрішньоклітинних ензимів в клітині та поза її межами, оскільки в нормі лише незначна їх кількість знаходиться в сироватці крові. Рівень активності ензимів корелює зі ступенем пошкодження, який може виражатися від патологічного посилення проникності

мембрани клітин до некрозу. Найбільшої уваги заслуговують органоспецифічні, або індикаторні ензими, які є специфічними тільки для певного типу тканин [18].

На порушення метаболічних процесів у клітинах організму, ураженого канцерогенами, вказують показники активності мембранозалежних ензимів (АлАТ та АсАТ), які локалізуються, в основному, в печінці та міокарді.

У таблиці 4.1 наведено результати досліджень АсАТ у сироватці крові та гомогенаті печінки щурів, яким впродовж 7 місяців вводили 1,2-ДМГ та після застосування цитостатика Кселоди й гепатопротектора Глутаргін.

Таблиця 4.1 – Динаміка активності аспартатамінотрансферази у сироватці крові та печінці щурів при диметилгідразиновому ураженні після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргіну ($M \pm m$; $n=72$)

Групи тварин / терміни ураження диметилгідразином	Сироватка крові (мкат/л)	Печінка (мкат/кг)
Контроль	1,27±0,03	4,22±0,15
1 місяць ураження	1,59±0,03*	3,70±0,09*
2 місяці ураження	1,91±0,03*	3,50±0,09*
3 місяці ураження	2,11±0,03*	3,10±0,11*
4 місяці ураження	2,81±0,04*	2,75±0,12*
5 місяців ураження	3,22±0,02*	2,85±0,13*
6 місяців ураження	3,71±0,04*	2,47±0,14*
7 місяців ураження	3,89±0,03*	2,18±0,08*
7 місяців ураження + Кселода (14 днів)	3,96±0,02	2,02±0,09
7 міс ураження +Кселода+Глутаргін (14 днів)	3,76±0,02 ^{&}	2,28±0,05 ^{&}
7 місяців ураження + Кселода (21 день)	4,12±0,03 [#]	1,83±0,10 [#]
7 міс ураження +Кселода+Глутаргін (21 день)	2,78±0,01 ^{&}	2,59±0,08 ^{&}

Примітка. Тут і в наступних таблицях розділу * - вірогідні зміни між показниками тварин контролю та ураженими диметилгідразином; # - вірогідні зміни між показниками уражених тварин і тваринами, які після ураження канцерогеном піддавались дії цитостатика Кселоди; & - вірогідні зміни між показниками уражених канцерогеном тварин на тлі введення цитостатика Кселоди, та ураженими тваринами, які одночасно отримували Кселоду та Глутаргін.

Активність АсАТ прогресуюче підвищувалась впродовж 7-ми місяців експерименту – на 4-ий місяць експерименту (в 2,2 раза) з подальшим зростанням на 5, 6, 7 місяці в 2,5; 2,9; 3,1 раза відповідно порівняно з

показником контрольної групи тварин.

Можливо, таке прогресуюче зростання активності АсАТ пов'язане зі стресовою ситуацією, у якій перебували тварини протягом 7-ми місяців, так як відомо, що АсАТ – ензим, який є органоспецифічним для міокарда. Щотижневе введення токсиканта, очевидно, призводило до додаткового викиду в кров катехоламінів, зокрема адреналіну, підвищені дози якого можуть викликати цитоліз кардіоцитів та вихід АсАТ у кров'яне русло.

Встановлено, що активність АсАТ у гомогенаті печінки прогресуюче знижувалась (табл. 4.1). Через 1 місяць від початку введення ДМГ даний показник знизився на 12 % порівняно із контролем. Максимального зниження активність ензиму зазнала через 7 місяців розвитку онкопроцесу і становила 52 % від рівня у контрольних щурів. Застосування Кселоди призвело до ще більшого зниження рівня АсАТ у печінці. Через 21 день застосування цитостатика активність ензиму була на рівні 43 % щодо контролю і на 9 % знизилась відносно рівня уражених протягом 7 місяців тварин (рис. 4.1).

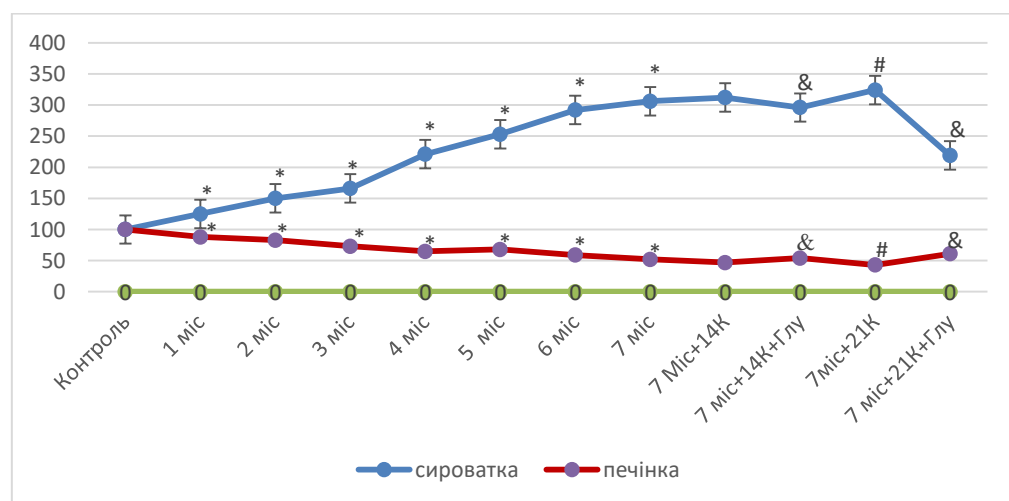


Рисунок 4.1 – Динаміка активності аспартатамінотрансферази у сироватці крові та печінці щурів при диметилгідразиновому ураженні після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргіну, %

Примітка: Тут і на наступних рисунках розділу * - вірогідні зміни між показниками тварин контролю та ураженими диметилгідрaziном; # - вірогідні зміни між показниками уражених тварин і тваринами, які після ураження канцерогеном піддавались дії цитостатика Кселоди; & - вірогідні зміни між показниками уражених канцерогеном тварин на тлі введення цитостатика Кселоди, та ураженими тваринами, які отримували одночасно Кселоду та Глутаргін.

Поряд з протипухлинною терапією в досягненні та збереженні позитивних результатів лікування онкологічних хворих важливу роль відіграє своєчасно використана та адекватна терапія супроводу або, як її називають, «підтримуюча терапія». Терапія супроводу спрямована на попередження, зниження ступеня тяжкості ускладнень протипухлинної терапії, що сприяє покращенню якості життя та загального стану онкологічних хворих [43].

Останнім часом гепатопротектори частіше використовуються у клінічній практиці завдяки тому, що вдалося налагодити випуск ряду нових, вискоелективних препаратів. Сучасні гепатопротектори мають більш розвинену пористість із значною питомою поверхнею. При проходженні через ШКТ гепатопротектори стають на заваді контакту токсичних сполук зі слизовою оболонкою і цим самим істотно зменшують їх всмоктування [44, 45].

Цілеспрямованість їх використання полягає не лише як засобів тимчасового заміщення тих чи інших детоксикаційних функцій печінки, але й для позитивної модифікації природнього перебігу захворювання, на основі якого розвивається печінкова недостатність.

Тому з метою корекції викликаних канцерогеном ДМГ і цитостатиком Кселодою порушень ми використали гепатопротектор вітчизняного виробництва Глутаргін.

У щурів із індукованим канцерогенезом, яким на тлі цитостатичної терапії застосовували гепатопротектор глутаргін, активність АсАТ вірогідно ($p \leq 0,05$) знижувалася у сироватці крові. Після 14 та 21 дня застосування глутаргіну даний показник знизився на 16 % та 105 % у сироватці крові та підвищився на 7 % та 18 % у печінці досліджуваних тварин порівняно з групою щурів, які даний препарат не отримували (рис.4.1).

При вивченні функціонального стану печінки за умов ураження щурів диметилгідразином ми діагностували цитолітичний синдром за показниками активності АсАТ та АлАТ.

Результати дослідження активності АлАТ у сироватці крові та гомогенаті

печінки піддослідних тварин із змодельованим неопластичним ураженням представлені у таблиці 4.2.

Таблиця 4.2 – Динаміка активності аланінамінотрансферази у сироватці крові та печінці щурів при диметилгідразиновому ураженні після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргіну ($M \pm m$; $n=72$)

Групи тварин / терміни ураження диметилгідразином	Сироватка крові (мкат/л)	Печінка (мкат/кг)
Контроль	0,82±0,03	5,63±0,20
1 місяць ураження	1,64±0,03*	5,35±0,24
2 місяці ураження	1,53±0,03*	4,95±0,36
3 місяці ураження	1,69±0,03*	4,80±0,29
4 місяці ураження	2,28±0,03*	4,53±0,19*
5 місяців ураження	1,90±0,04*	4,12±0,36*
6 місяців ураження	1,66±0,04*	3,80±0,29*
7 місяців ураження	1,60±0,02*	3,47±0,21*
7 місяців ураження + Кселода (14 днів)	1,63±0,06	3,25±0,24
7 міс ураження +Кселода+Глутаргін (14 днів)	1,44±0,03	3,60±0,18
7 місяців ураження + Кселода (21 день)	1,66±0,02	3,10±0,26
7 міс ураження +Кселода+Глутаргін (21 день)	1,29±0,01 ^{&}	4,20±0,25 ^{&}

У сироватці крові тварин із хронічною неопластичною інтоксикацією спостерігалось вірогідне ($p < 0,05$) підвищення досліджуваного ензиму впродовж усього експерименту. Через 1 місяць від початку введення 1,2-ДМГ активність АлАТ у сироватці крові тварин підвищилась у 2 рази.

Протягом усіх наступних термінів дослідження вона прогресуюче зростала й найбільшого значення досягла на 4 місяць ураження (в 2,8 рази перевищила рівень контролю).

Очевидно, у цей термін захисні резерви організму уже знизились, нагромадилась значна кількість токсичних метаболітів і активність ензиму в сироватці крові досягла максимального свого значення. У подальшому організм поступово почав включати свої адаптаційні можливості, що викликало незначне зниження активності АлАТ, яка трималась практично на одному рівні до кінця експерименту. В останній термін дослідження даний показник залишався вищим від показника контрольних щурів у 1,95 рази.

Збільшення активності АлАТ та АсАТ у сироватці крові щурів може свідчити про порушення цілісності плазматичних мембран клітин різних органів, у першу чергу печінки, наростаючу клітинно-печінкову недостатність та розвиток синдрому цитолізу в експериментальних тварин.

Застосування цитостатика Кселоди впродовж 14 та 21 дня не призвело до зниження активності АлАТ, а навпаки спровокувало незначне зростання даного показника у сироватці крові уражених тварин. Більш виражене підвищення даного показника відмічалось у сироватці крові тварин, лікованих 21 день Кселодою (на 7 %) порівняно до показника у тварин на 7-ому місяці ураження ДМГ (рис. 4.2).

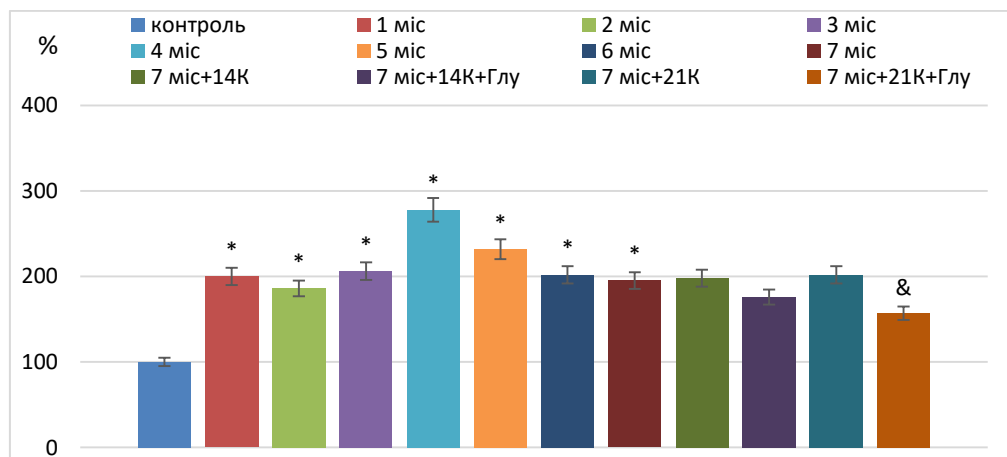


Рисунок 4.2 – Динаміка активності АлАТ у сироватці крові щурів при диметилгідразиновому ураженні після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргіну, %

У щурів із індукованим канцерогенезом, яким на тлі цитостатичної терапії застосовували гепатопротектор, активність АлАТ вірогідно ($p \leq 0,05$) знижувалася в сироватці крові на 21 добу введення глутаргіну (на 45 %) щодо уражених тварин, які отримували тільки Кселоду.

Активність АлАТ у гомогенаті печінки через 1 місяць від початку моделювання онкопроцесу вірогідно знижувалась (нижче контрольного показника в 2 рази) й залишалася вірогідно нижчою в усі терміни спостереження (табл. 4.2).

Через 7 місяців спостереження за ураженими ДМГ тваринами ми відмітили зниження активності АлАТ у печінці на 38 %. Після 21-денного застосування цитостатичної терапії даний показник знизився до 55 %, тобто був нижчим рівня контролю на 45 % та на 7 % знизився щодо рівня уражених ДМГ протягом 7 місяців щурів (рис. 4.3).

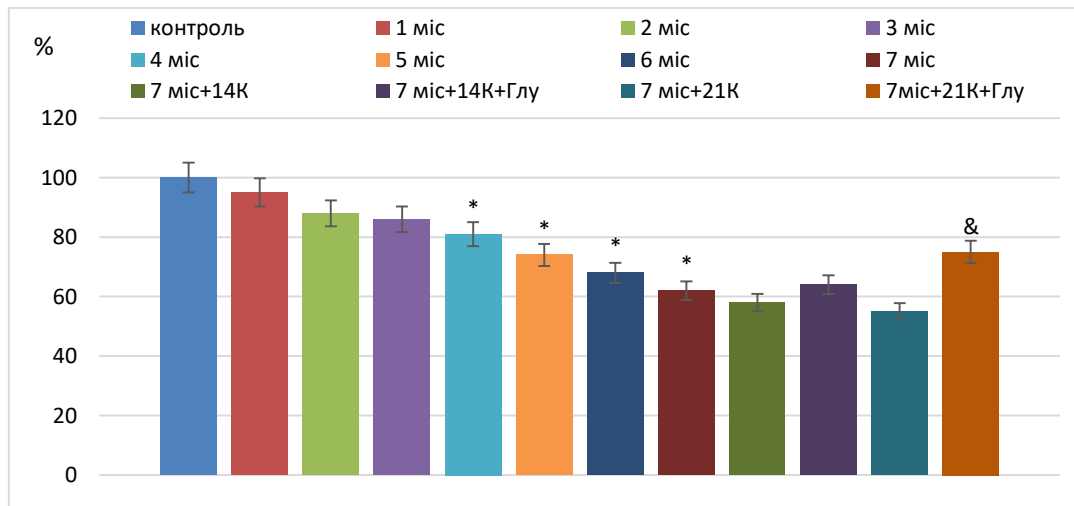


Рисунок 4.3 – Динаміка активності АлАТ у гомогенаті печінки щурів при диметилгідразинівому ураженні після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргіну, %

У гомогенаті печінки активність АлАТ після 14 та 21 дня застосування Глутаргіну підвищилася незначно порівняно з групою щурів, які даний препарат не отримували.

Про пошкодження мембранних структур гепатоцитів свідчать результати досліджень органоспецифічного ензиму (маркера холестази) – лужної фосфатази в сироватці крові та гомогенаті печінки щурів, уражених ДМГ.

Зменшення або збільшення активності лужних фосфатаз може супроводжуватись розвитком деяких захворювань. Збільшення активності лужних фосфатаз у тканинах людини спостерігається за патологічних станів кісткової системи, печінки та інших органів [34, 56]. При деяких запальних захворюваннях лужна фосфатаза розглядається як потенційна фармакологічна мішень.

Дослідження активності ЛФ впродовж 7-ми місяців показало підвищення активності даного ензиму в сироватці крові з найбільшими піками на 2, 5 та 7 (у 2,0 раза) місяці ураження (табл. 4.3).

Таблиця 4.3 – Динаміка активності лужної фосфатази у сироватці крові та печінці щурів при диметилгідразинівому ураженні після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргіну ($M \pm m$; $n=72$)

Групи тварин / терміни ураження диметилгідразинівом	Сироватка крові (мкат/л)	Печінка (мкат/кг)
Контроль	2,51±0,05	15,23±0,41
1 місяць ураження	3,63±0,03*	15,10±0,48
2 місяці ураження	5,11±0,09*	14,85±0,39
3 місяці ураження	4,85±0,06*	14,43±0,54
4 місяці ураження	4,78±0,05*	13,90±0,74
5 місяців ураження	5,14±0,06*	13,45±0,61
6 місяців ураження	5,04±0,03*	12,75±0,60*
7 місяців ураження	5,05±0,03*	11,86±0,58*
7 місяців ураження + Кселода (14 днів)	5,15±0,04	11,60±0,67
7 міс ураження +Кселода+Глутаргін (14 днів)	4,82±0,04 ^{&}	12,65±0,81
7 місяців ураження + Кселода (21 день)	5,22±0,03 [#]	11,45±0,61
7 міс ураження +Кселода+Глутаргін (21 день)	3,69±0,02 ^{&}	13,80±0,72 ^{&}

Зважаючи на те, що зростання активності ЛФ у сироватці крові є типовою ознакою холестазу, одержані результати слід розглядати як підтвердження ураження гепатоцитів із проявами запальних процесів, цитолізом та застоєм жовчі в жовчних капілярах і протоках, що супроводжує ураження паренхіми печінки [53].

При застосуванні Кселоди спостерігалось підвищення активності ЛФ у сироватці крові уражених ДМГ щурів, але воно не було вірогідним (на 14 день застосування) проти групи тварин з неопластичною інтоксикацією, які не отримували цитостатик. Через 21 день введення цитостатика даний показник вірогідно підвищився ($p \leq 0,05$) щодо групи уражених ДМГ щурів.

Після застосування Глутаргіну активність ЛФ знизилася на 13 % у

терміні 14 днів його застосування та на 61 % через 21 день від його поступлення в організм уражених ДМГ тварин (рис. 4.4).

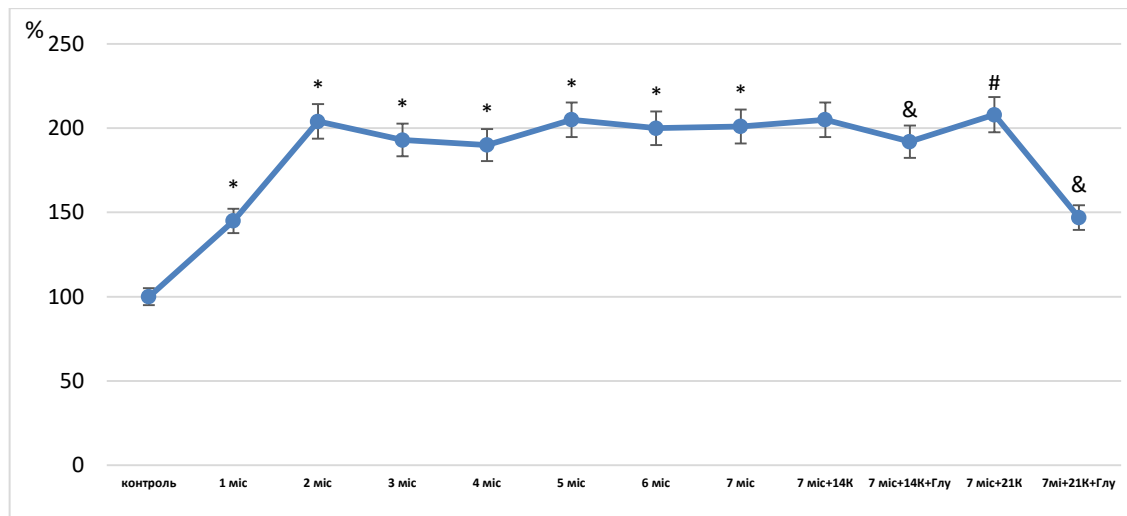


Рисунок 4.4 – Динаміка активності ЛФ у сироватці крові щурів при диметилгідразинівому ураженні після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргіну, %

У гомогенаті печінки спостерігалась тенденція до зниження активності ензиму й лише на 6 та 7 місяць розвитку онкопроцесу відмічались вірогідні зміни ($p \leq 0,05$) даного показника. На 6 місяць дослідження активність ЛФ знизилась у 1,2 раза, на 7-ий місяць – у 1,3 раза щодо тварин контрольної групи.

Аналогічна тенденція до зниження спостерігалася при визначенні активності ЛФ у печінці за умов індукованого онкогенезу на тлі застосування ципостатичного препарату Кселоди. Зниження, яке нами відмічалось, не було вірогідним стосовно щурів, уражених ДМГ протягом 7 місяців.

Відмічено позитивний вплив гепатопротектора Глутаргін на активність таких неспецифічних маркерів запалення та цитолізу у досліджуваних органах, як лужна фосфатаза. За умов застосування коригуючого засобу (14 та 21 день) активність ЛФ підвищувалася на 7 % та 16 % відповідно порівняно з аналогічним показником у групі тварин, уражених ДМГ, на тлі застосування Кселоди, яким корекція гепатопротектором не проводилась (рис.4.5).

Отримані результати з вивчення вищевказаних ензимів у щурів, яким застосовували Кселоду, можуть вказувати на гепатотоксичність використаного нами цитостатика, що обумовило використання за даних умов

гепатопротектора Глутаргіну. Даний препарат має гепатопротекторну дію завдяки своїм антиоксидантним, антигіпоксичним та мембраностабілізуючим властивостям, позитивно впливає на процеси енергозабезпечення у гепатоцитах [42].

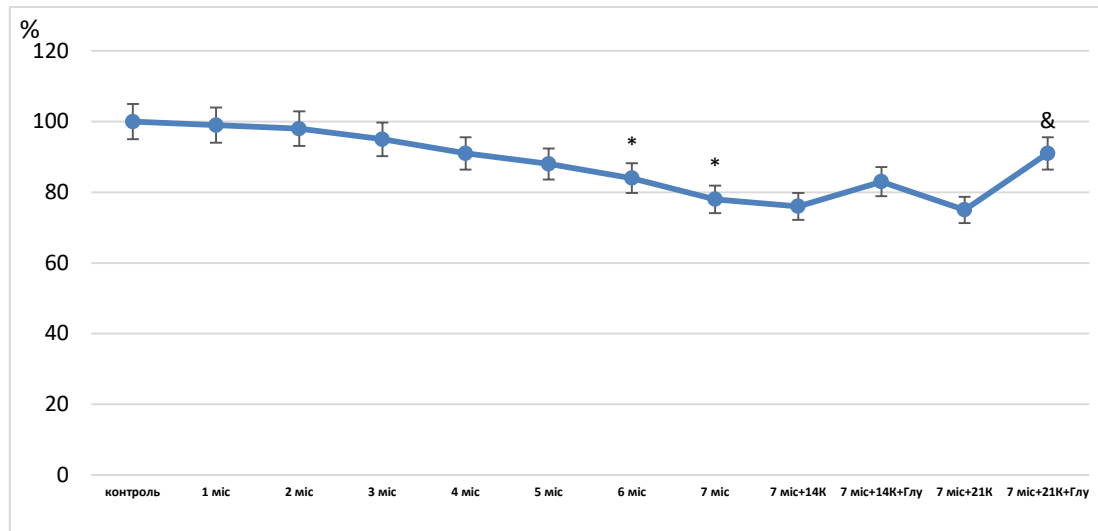


Рисунок 4.5 – Динаміка активності ЛФ у печінці щурів при диметилгідразиновому ураженні після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргіну, %

Описана в розділі динаміка змін біохімічних параметрів крові експериментальних тварин вказує на те, що застосування гепатопротектора глутаргін зменшує прояви клітинно-печінкової недостатності та пригнічує розвиток синдрому цитолізу в експериментальних тварин, а також сприяє відновленню функції печінки за рахунок відновлення проникності мембран гепатоцитів.

4.2 Вплив індукованого канцерогенезу на маркери ендотоксемії після застосування цитостатичної терапії та гепатопротекторів

Явища інтоксикації супроводжують захворювання та їх ускладнення, пов'язані з підвищеним розпадом тканин, посиленими процесами катаболізму, недостатністю функції печінки і нирок, порушенням процесів мікроциркуляції [25]. Узагальнення патогенезу багатьох захворювань внутрішніх органів та їх

клінічних проявів дають можливість говорити про наявність неспецифічного синдрому ендогенної інтоксикації (СЕІ), який не лише супроводжує більшість захворювань, але і сам по собі є важливим фактором їх патогенезу, і в багатьох випадках визначає можливі несприятливі наслідки [99].

Велика частина онкохворих гине від ендогенної інтоксикації. Вивчення даного питання в умовах індукованого канцерогенезу є найбільш перспективним, так як онкопроцес супроводжується вираженими проявами СЕІ, системного патологічного процесу, що здатний швидко прогресувати. Найбільш перспективним для поглибленого вивчення ендогенної інтоксикації в якості субстратів є молекули середньої маси, які мають пряму мембранотоксичну дію та ініціюють появу пептидів, близьких за структурою до біорегуляторів. Значне підвищення вмісту МСМ у крові при різних патологіях є прогностично несприятливим показником перебігу захворювань [65].

З літератури відомо, що виражені розлади метаболізму, накопичення недоокислених токсичних продуктів та активація процесів перекисного окислення ліпідів, що виникають при патологічних станах [82], призводять до активації мембранодеструктивних процесів, зростання ендотоксикозу та виникнення поліорганної недостатності. Нормальне функціонування органів залежить від стану цитоплазматичних мембран клітин, зміна структури та функції яких порушує їх бар'єрну здатність [83] і є причиною виникнення патологічних процесів.

Одним із способів діагностики проникності клітинної мембрани є дослідження проникності мембран еритроцитів (ЕП). Еритроцитарний індекс інтоксикації (ЕІІ) є одним із маркерів ендогенної інтоксикації.

У динаміці ураження 1,2-диметилгідразин гідрохлоридом спостерігалось вірогідне ($p \leq 0,05$) підвищення ЕП від початку і до кінця розвитку онкопроцесу (з другого місяця введення ДМГ в 1,6 раза, на 3-й місяць – у 2,2 раза, на 4-й місяць – у 3,1 раза, на 5-й, 6-й, та 7-й місяці – у 3,4; 3,6; 3,6 раза відповідно порівняно з аналогічним показником контрольної групи тварин (табл. 4.4).

Відомо, що токсичність компонентів хіміотерапії та наявність у неї виражених побічних ефектів є одним із основних факторів обмеження

застосування адекватної цитостатичної терапії й іноді буває настільки серйозною, що вимагає припинення лікування ще до отримання чіткого протипухлинного ефекту [30, 75].

Таблиця 4.4 – Динаміка змін еритроцитарного індексу інтоксикації у щурів при диметилгідразиновому ураженні після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргін (M±m; n=72)

Групи тварин / терміни ураження диметилгідразином	Цільна кров (%)
Контроль	24,37±0,25
1 місяць ураження	25,96±0,33*
2 місяці ураження	39,46±0,39*
3 місяці ураження	53,41±0,46*
4 місяці ураження	74,78±0,55*
5 місяців ураження	82,92±0,56*
6 місяців ураження	86,91±0,73*
7 місяців ураження	87,22±0,78*
7 місяців ураження + Кселода (14 днів)	83,54±0,54 [#]
7 міс ураження +Кселода+Глутаргін (14 днів)	47,53±0,45 ^{&}
7 місяців ураження + Кселода (21 день)	72,83±0,53 [#]
7 міс ураження +Кселода+Глутаргін (21 день)	33,96±0,38 ^{&}

Застосування цитостатика Кселоди впродовж 14 та 21 дня призвело до вірогідного зниження ЕП, що статистично, але не суттєво відрізняється від аналогічного показника у групі тварин з чистим ураженням ДМГ (рис. 4.6).

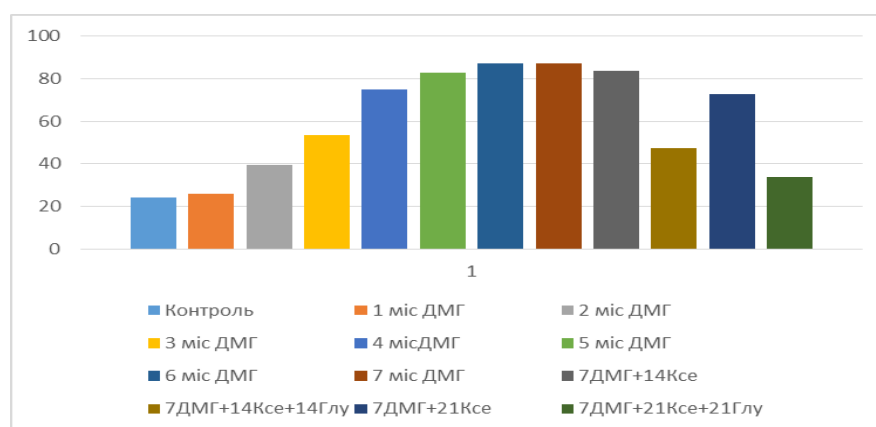


Рисунок 4.6 – Динаміка змін еритроцитарного індекса інтоксикації у тварин уражених 1,2-диметилгідразином та після застосування препарату Кселода, %

Гепатопротектор Глутаргін, який застосовували впродовж 14 та 21 дня ураженим ДМГ тваринам та лікованим цитостатиком, призвів до зниження проникності еритроцитарних мембран. Так застосування даного чинника призвело до зниження рівня ЕП в 1,8 (14 днів) та 2,1 раза (21 день) відповідно, порівняно з аналогічним показником у групі тварин, уражених ДМГ та після застосування Кселоди, яким корекцію Глутаргіном не проводили.

Загальновідомо, що рівень МСМ варіює залежно від стану метаболічних процесів у організмі і, в якійсь мірі, служить прогностичним критерієм порушення обмінних процесів. Показано, що вміст МСМ у сироватці крові підвищується при різних патологічних станах, причому спостерігається варіювання рівня даного показника. Показник рівня МСМ вважають основним біохімічним маркером, що відображає рівень патологічного протеїнового метаболізму [76].

Рівень МСМ₂₅₄ вважають загальним інтегральним показником вмісту речовин низької й середньої молекулярної маси (від 500 Da до 5000 Da), до яких, окрім пептидів, відносять близько двохсот сполук нормального й аномального метаболізму.

Результати дослідження вмісту МСМ₂₅₄ у сироватці крові щурів з експериментальним канцерогенезом та після застосування коригуючих чинників наведені в таблиці 4.5.

Динаміка підвищення вмісту МСМ₂₅₄ виявилася наступною: приріст, починаючи з 1 місяця (в 1,6 раза) введення ДМГ з подальшим зростанням на 2-й (у 2,6 раза), 3-й (у 2,4 раза), 4-й (у 2,6 раза), 5-й (у 2,7 раза) місяці спостереження та з наступним підвищенням на 6-й (у 2,8 раза) та 7-й (у 2,9 раза) місяці змодельованого онкопроцесу.

Динаміка цього показника більш яскраво ілюструвала виявлену тенденцію – первинне (місяць після початку моделювання індукованого ураження) підвищення в крові МСМ, далі – період типу «плато», коли рівень МСМ істотно не змінювався (2–5 місяці) і, нарешті, – лавиноподібне нагромадження МСМ, починаючи з 6–7 місяців розвитку онкопроцесу.

Таблиця 4.5 – Вміст молекул середньої маси у сироватці крові щурів при диметилгідразиновому ураженні та після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргіну ($M \pm m$; $n=72$)

Групи тварин /терміни ураження диметилгідразином	M_{254}	M_{280}
Контрольна група	$0,062 \pm 0,001$	$0,069 \pm 0,001$
1 місяць ураження	$0,098 \pm 0,001^*$	$0,101 \pm 0,002^*$
2 місяці ураження	$0,161 \pm 0,002^*$	$0,180 \pm 0,002^*$
3 місяці ураження	$0,151 \pm 0,001^*$	$0,161 \pm 0,001^*$
4 місяці ураження	$0,163 \pm 0,002^*$	$0,171 \pm 0,002^*$
5 місяців ураження	$0,168 \pm 0,003^*$	$0,179 \pm 0,003^*$
6 місяців ураження	$0,174 \pm 0,003^*$	$0,187 \pm 0,003^*$
7 місяців ураження	$0,182 \pm 0,002^*$	$0,193 \pm 0,003^*$
7 міс ураження + Кселода (14 днів)	$0,192 \pm 0,002^\#$	$0,199 \pm 0,002^*$
7 міс ураження +Кселода+Глутаргін (14 днів)	$0,121 \pm 0,001^\&$	$0,113 \pm 0,001^\&$
7 міс ураження + Кселода (21 день)	$0,201 \pm 0,003^\#$	$0,210 \pm 0,003^\#$
7 міс ураження+Кселода+Глутаргін (21 день)	$0,106 \pm 0,001^\&$	$0,102 \pm 0,001^\&$

Застосування цитостатика Кселоди впродовж 14 та 21 дня призвело до ще більшого підвищення даного показника щодо рівня уражених ДМГ тварин в останній місяць дослідження. Через 14 днів застосування Кселоди вміст M_{254} підвищився на 15 %, через 21 день застосування цитостатика – на 30 % (рис. 4.7).

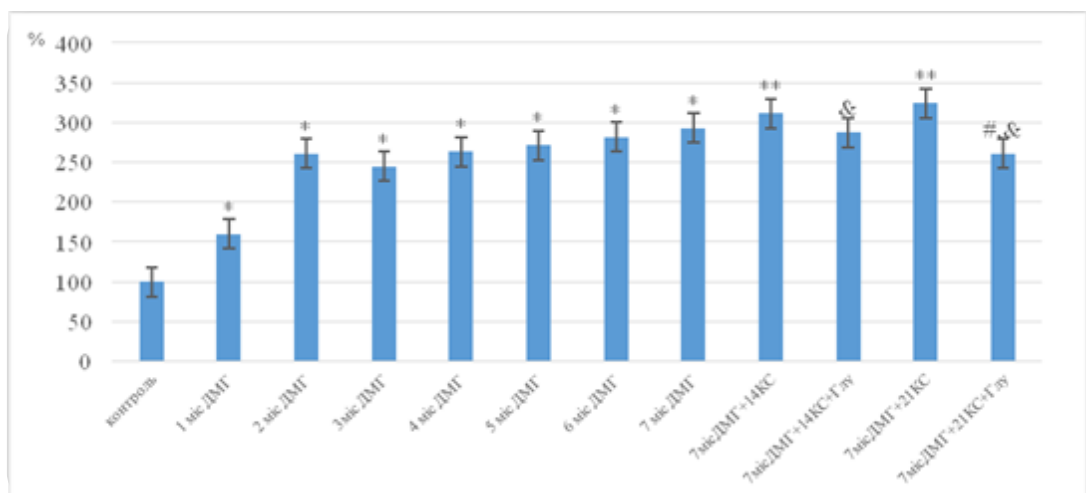


Рисунок 4.7 – Вміст M_{254} у сироватці крові щурів при диметилгідразиновому ураженні та після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргіну, %

Отже, Кселода не призводить до зниження вмісту МСМ, у яких переважають аліфатичні амінокислоти, у сироватці крові тварин. Після її застосування даний показник ще більше підвищується.

Використаний нами гепатопротектор проявив позитивний вплив на досліджуваний показник, 14 та 21 день його застосування призвело до вірогідного зниження ($p \leq 0,05$) вмісту МСМ₂₅₄ у сироватці крові тварин, які після розвитку експериментального канцерогенезу одночасно отримували як цитостатичну терапію, так і Глутаргін (у 1,6 та 1,9 раза відповідно) щодо показника в уражених щурів, які отримували тільки цитостатик.

Рівень МСМ₂₈₀, що більшою мірою відображає вміст ароматичних амінокислот, статистично значимо почав збільшуватися від початку експерименту. На 2-ий місяць введення ДМГ перевищив контрольне значення у 2,6 раза ($p < 0,001$). Починаючи з 6-го та 7-го місяця спостереження даний показник підвищувався в 2,7 та у 2,8 раза відповідно.

Виражене нагромадження в крові МСМ₂₈₀ виявилось пізніше, коли формувався СЕІ і до патогенетичного кола включалося системне ушкодження внутрішніх органів. Відповідно нагромадження в крові МСМ₂₈₀ можна вважати маркером розвитку СЕІ.

Дослідження вмісту МСМ₂₈₀ показало їх підвищення протягом 7 місяців ураження ДМГ з максимальним показником у кінці експерименту (279 % щодо рівня контролю). Протягом перших двох місяців ураження ДМГ вміст МСМ₂₈₀ вірогідно ($p \leq 0,05$) підвищувався, наступні два місяці даний показник незначно знизився щодо попередніх місяців, після чого прогресуюче почав зростати (рис. 4.8).

щурів, яким протягом 7 місяців моделювали канцерогенез, та в групі щурів, які на тлі розвинутого онкопроцесу 14 днів отримували цитостатик Кселода, вміст МСМ₂₈₀ практично знаходився на одному рівні (в 2,8 та 2,9 раза відповідно перевищував рівень контролю). Застосування Кселоди протягом 21 дня призвело до вірогідного ($p \leq 0,05$) підвищення даного показника щодо рівня тварин із канцерогенезом (7 місяць дослідження).

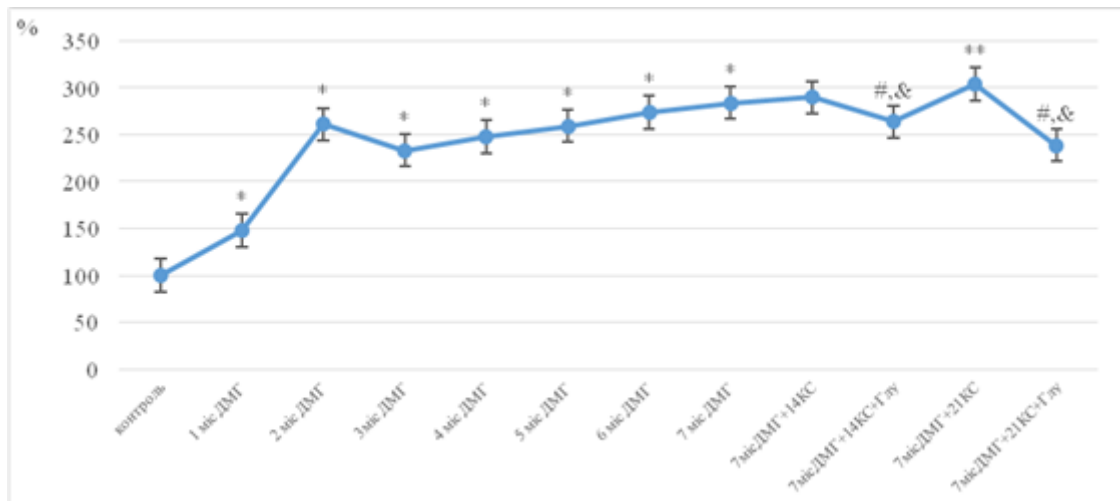


Рисунок 4.8 – Вміст MCM₂₈₀ у сироватці крові щурів при диметилгідразиновому ураженні та після застосування глютаргіну на тлі цитостатичної терапії, %

При дослідженні вмісту MCM₂₈₀ у сироватці крові щурів із канцерогенезом, які отримували одночасно Кселоду та гепатопротектор Глутаргін, відмічено позитивний вплив останнього на даний показник. Вміст MCM, у яких переважають ароматичні амінокислоти, через 14 днів застосування Глутаргіну знизився в 1,8 раза порівняно із тваринами, які отримували тільки цитостатик, через 21 день – 2,1 раза.

Ендогенна інтоксикація може бути зумовлена не тільки нагромадженням у крові токсинів, але й порушенням співвідношення між окремими компонентами пулу речовин низької й середньої молекулярної маси [25, 99]. Для оцінки цього співвідношення було запропоновано розраховувати індекси, що відображали співвідношення екстинцій на певних довжинах хвиль.

Індекс розподілу (Ip), який найширше використовується, протягом усіх термінів спостереження зростає, особливо на 7-й місяць моделювання індукованого канцерогенезу в 1,2 раза щодо контрольного рівня ($p < 0,001$) (табл. 4.6).

Це вказує на нагромадження в крові тварин зі змодельованим онкопроцесом пептидів, що містять хроматофори ароматичної природи – як в ранні, так і в пізні періоди спостереження. У щурів, яким протягом 7 місяців

вводили ДМГ, та в групі щурів, які на тлі розвинутого онкопроцесу 14 і 21 день отримували цитостатик Кселода, рівень Ір знаходився на одному рівні.

Таблиця 4.6 – Рівень Індексу розподілу у сироватці крові щурів при диметилгідразиновому ураженні та після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргіну ($M \pm m$; $n=72$)

Групи тварин /терміни ураження диметилгідразином	Ір _{280/254}
Контрольна група	1,01±0,01
1 місяць ураження	1,13±0,01*
2 місяці ураження	1,12±0,01*
3 місяці ураження	1,17±0,01*
4 місяці ураження	1,15±0,01*
5 місяців ураження	1,17±0,02*
6 місяців ураження	1,17±0,02*
7 місяців ураження	1,24±0,02*
7 міс ураження + Кселода (14 днів)	1,24±0,02
7 міс ураження +Кселода+Глутаргін (14 днів)	0,93±0,01 ^{&}
7 міс ураження + Кселода (21 день)	1,24±0,01
7 міс ураження+Кселода+Глутаргін (21 день)	0,96±0,01 ^{&}

Відповідно до концепції проф. Громашевської Л. Л. (2006) тривале підвищення Індексу розподілу молекул середньої маси (Ір) свідчить про наявність клініко–лабораторного синдрому ендогенної інтоксикації, що обумовлено активацією процесів ПОЛ на зростання вмісту ароматичних амінокислот у МСМ [95].

При дослідженні рівня Ір у сироватці крові щурів із канцерогенезом, які отримували одночасно Кселода та гепатопротектор Глутаргін, відмічено позитивний вплив останнього на даний показник. Рівень Ір через 14 і 21 день застосування глутаргіну знизився у 1,3 раза порівняно із ураженими тваринами, які отримували тільки цитостатик (рис. 4.9).

За умов застосування поліфункціонального гепатопротектора глутаргін, встановлено зниження Ір, що є позитивною в патогенетичному плані зміною цього важливого прогностичного критерію.

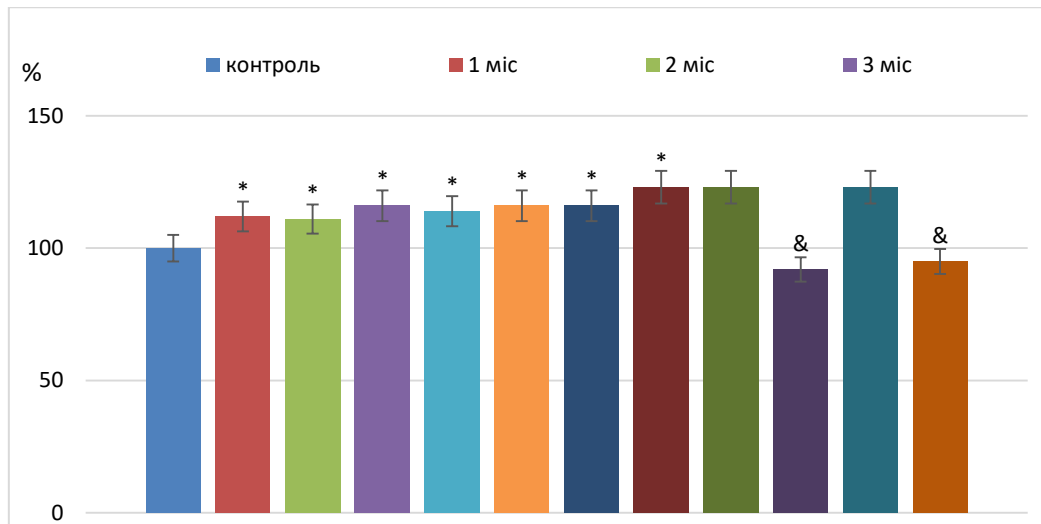


Рисунок 4.9 – Рівень Індексу розподілу у сироватці крові щурів при диметилгідразиновому ураженні та після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргіну, %

Отже, аналіз динаміки МСМ та розрахункового індексу кількісно підтвердив припущення про значення й внесок різних фракцій МСМ у розвиток індукованого ДМГ канцерогенезу.

Ці результати заслуговують на увагу, оскільки в доступній літературі нами не знайдено даних про патогенетичну роль окремих складників загального пулу речовин низької й середньої молекулярної маси, які об'єднують під назвою МСМ. Перевага нуклеотидної фракції й посилення ароматичності пептидів, що входять до складу МСМ, були несприятливими факторами перебігу онкопроцесу, оскільки супроводжували формування СЕІ.

Застосування глутаргіну призвело до нормалізації вмісту МСМ в сторону їх зниження у сироватці крові щурів з ДМГ-індукованим канцерогенезом та лікованих Кселодою. Позитивний ефект досягав найкращого рівня після застосування гепатопротектора Глутаргін впродовж 21 дня.

4.3 Цитокиновий статус у щурів із індукованим канцерогенезом після застосування цитостатичної терапії та гепатопротекторів

Відомо, що за умов хімічно індукованого канцерогенезу та при його поєднанні з цитостатичними середниками розвивається істотний дефект клітинної ланки імунітету, що може бути спричинено надмірним та

незбалансованим синтезом прозапальних та протизапальних медіаторів – інтерлейкінів [143]. Продукція різних цитокінів зазвичай супроводжує розвиток імунної відповіді, запальних реакцій і процесів гемопоезу. Порушення балансу між кількістю цих груп біологічних клітинних медіаторів і визначає, власне, тривалість, характер перебігу і наслідок патологічного процесу в організмі [2].

Цитокіновий статус організму піддослідних тварин оцінювали за активністю прозапальних (IL-6) та протизапальних (IL-4) цитокінів. Результати проведеного визначення представлено у таблиці 4.8.

Таблиця 4.8 – Вміст цитокінів у сироватці крові щурів при диметилгідразиновому ураженні та після застосування цитостатика Кселоди та введення Глутаргіну ($M \pm m$; $n=72$)

Групи тварин / терміни ураження диметилгідразином	IL-6, пкг/л	IL-4, пкг/л
Контрольна група	1,81±0,06	1,23±0,04
1 місяць ураження	3,12±0,08*	1,17±0,02
2 місяці ураження	3,37±0,05*	1,08±0,03*
3 місяці ураження	3,59±0,05*	0,96±0,03*
4 місяці ураження	4,10±0,07*	0,75±0,02*
5 місяців ураження	5,04±0,06*	0,69±0,03*
6 місяців ураження	5,85±0,07*	0,66±0,02*
7 місяців ураження	6,44±0,05*	0,62±0,02*
7 міс ураження + Кселода (14 днів)	6,68±0,20	0,60±0,03
7 міс ураження +Кселода+Глутаргін (14 днів)	6,07±0,21	0,72±0,02 ^{&}
7 міс ураження + Кселода (21 день)	6,95±0,14 [#]	0,59±0,02
7 міс ураження+Кселода+Глутаргін (21 день)	4,11±0,27 ^{&}	0,75±0,03 ^{&}

У проведених дослідженнях відмічено прогресуюче зростання вмісту IL-6 у групі тварин із змодельованим диметилгідразиновим канцерогенезом. Так, IL-6 зростав у 1,7 раза (1 місяць), 1,9 раза (2 місяць), 2,0 раза (3 місяць), у 2,3 раза (4 місяць), 2,8 раза (5 місяць), 3,2 раза (6 місяць) та в 3,6 раза (7 місяць) у порівнянні з аналогічним показником у контрольній групі тварин.

Отримані нами експериментальні дані узгоджуються з даними літератури щодо зміни профілю прозапальних цитокінів при онкологічних захворюваннях [13].

За умови поєданого впливу ДМГ та цитостатика Кселоди спостерігалась аналогічна, але більш виражена тенденція змін вмісту про- та протизапальних цитокінів. Після 7 місяців ураження щурів ДМГ та 14 днів лікування Кселодою вірогідних змін відмічено не було. Вміст ІЛ-6 залишався практично на тому ж рівні. В уражених тварин, які отримували Кселоду протягом 21 дня даний показник підвищився в 3,8 раза порівняно з контролем і на 28 % перевищив рівень тварин, у яких змодельований канцерогенез (рис. 4.10).

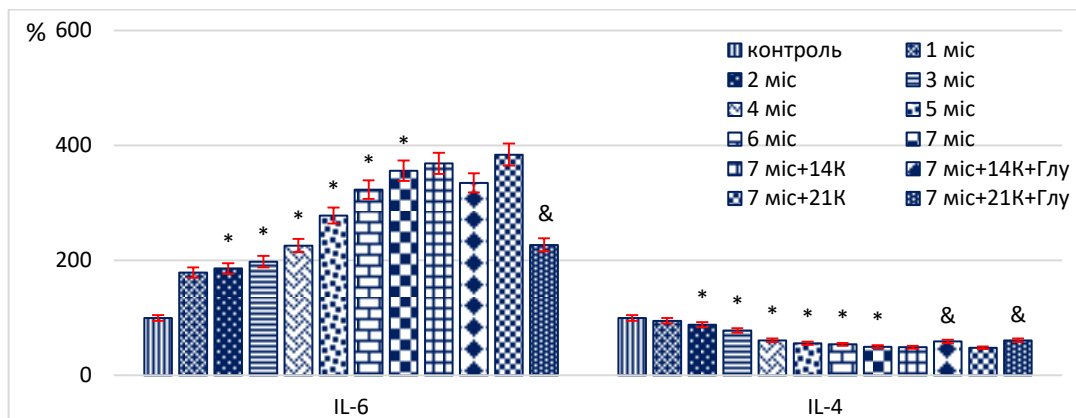


Рисунок 4.10 – Вміст інтерлейкінів у сироватці крові щурів при диметилгідразинівому ураженні та після застосування глутаргіну на тлі попередньо проведеної цитостатичної терапії, %

Такі результати вказують на побічну дію цитостатика, що призводить до ще більш вираженого розвитку запальних процесів в ураженому організмі.

Таким чином, проведене експериментальне дослідження дозволило зробити висновок про те, що за умов змодельованого канцерогенезу спостерігаються виражені розлади функціонування та дестабілізація факторів клітинної ланок лімфоїдної системи, а саме істотні зміни цитокінової матриці у піддослідних тварин, що є вкрай несприятливим фактором в умовах розвитку змодельованого неопластичного процесу.

Виходячи з цього, виникла потреба застосувати гепатопротектор Глутаргін для захисту печінки від токсичної дії метаболітів, які утворюються за розвитку онкопроцесу, так і від продуктів метаболізму цитостатика, що можуть призвести до активації запалення в ураженому організмі. У групі тварин із експериментальним канцерогенезом, які протягом 21 дня отримували одночасно Кселоду та Глутаргін, спостерігалось зниження вмісту

прозапального цитокіну і до кінця дослідження ми відмітили вірогідне ($p \leq 0,05$) його зниження (на 157 %) порівняно з групою щурів, які гепатопротектор не отримували. При порівнянні даного показника в щурів з експериментальним канцерогенезом і щурів, які отримували одночасно протягом 21 дня Кселоду та Глутаргін відмічено зниження вмісту ІЛ-6 на 129 %.

Отже, застосування Глутаргіну сприяє більш вираженому зниженню вмісту прозапального цитокіну у сироватці крові щурів з канцерогенезом після проведеної цитостатичної терапії.

Відомо, що основою розвитку запального процесу є запуск цитокінового каскаду, який включає, з одного боку, прозапальні цитокіни, з іншого – протизапальні медіатори. Встановлено, що ІЛ-4 проявляє потужний протизапальний ефект та відіграє ключову роль у виникненні запальної реакції, а також зменшує запальні функції моноцитів й макрофагів [14].

Нами досліджено вміст ІЛ-4 у сироватці крові щурів із ДМГ-індукованим онкопроцесом. Протягом 7 місяців даний показник прогресуюче знижувався, починаючи з 2-ого місяця дослідження це зниження було вірогідним ($p \leq 0,05$) і до кінця експерименту вміст ІЛ-4 у 2 рази був нижчим від контрольного рівня. Після застосування цитостатичної терапії протягом 21 дня протизапальний цитокін незначно знижувався, практично не відрізняючись від такого в уражених ДМГ тварин. Щодо рівня тварин, які на тлі онкопроцесу отримували цитостатик Кселоду, протизапальний цитокін зазнав підвищення на 10 % після 14-денного використання глутаргіну (рис.4.10) і на 13 % після 21-денного його введення в організм (щодо рівня уражених ДМГ тварин, які отримували Кселоду).

Таким чином, отримані результати підтверджують ефективність застосування глутаргіну при запальних процесах в організмі щурів за умов експериментального хімічного канцерогенезу після застосування цитостатичної терапії, на що вказує часткове відновлення дисбалансу про-та протизапальних цитокінів. Очевидно, такий його вплив проявляється опосередковано, через відновлення функціональної спроможності печінки.

4.4 Особливості структурної організації товстої кишки та печінки за експериментального канцерогенезу після застосування глютаргіну на тлі цитостатичної терапії

Для підтвердження результатів наших досліджень щодо розвитку колоректального раку в щурів та вплив на нього цитостатичної терапії ми провели вивчення мікроструктури товстої кишки та печінки, так як використаний цитостатик Кселода підтвердив гепатотоксичність за даної патології.

Мікроскопічне вивчення стінки товстої кишки білих щурів інтактної групи встановили загальний план будови. Для слизової оболонки характерний рельєф, який утворений криптами. Крипти сформовані вrostанням епітелію у власну пластинку, яка утворена пухкою сполучною тканиною з кровоносними та лімфатичними судинами (рис. 4.11).

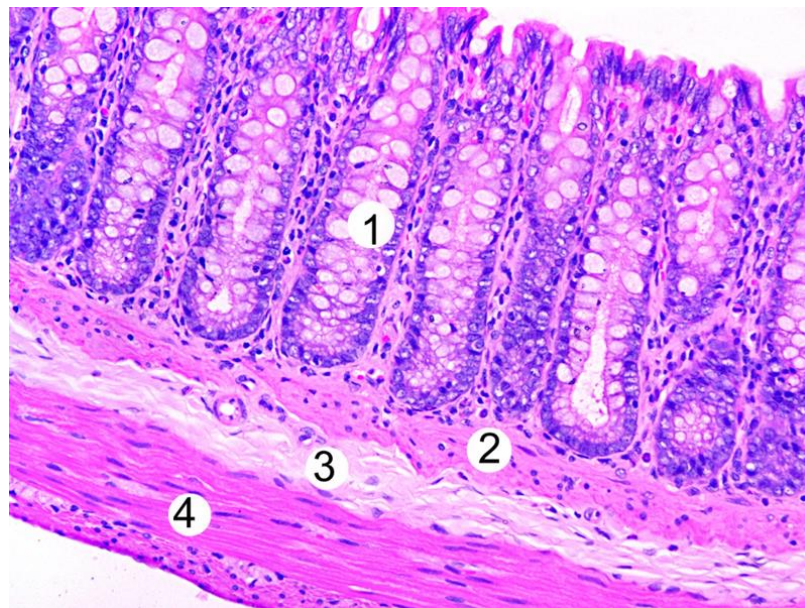


Рисунок 4.11 – Гістологічна організація кишки тварини інтактної групи. Крипти слизової оболонки з келихоподібними клітинами (1), м'язова пластинка (2), підслизова оболонка (3), м'язова оболонка (4). Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 100

Для епітеліальної пластинки характерним є наявність значної кількості келихоподібних клітин – головних продуцентів слизу. Циркулярні складки

утворені вип'ячуваннями слизової оболонки та підслизової основи в просвіт кишки. М'язова пластинка утворена гладкомязовими клітинами: внутрішнього колового та зовнішнього поздовжнього. Підслизова основа утворена пухкою волокнистою сполучною тканиною в якій міститься судинне та нерве сплетення. М'язова оболонка товстої кишки сформована із двох шарів гладких міоцитів. Зовнішня, серозна оболонка складалася з тонкого шару пухкої сполучної тканини та шару одношарового плоского епітелію – мезотелію.

Проведені мікроскопічні дослідження стінки товстої кишки експериментальних тварин через 7 місяців змодельованого канцерогенезу встановили диспластичні зміни слизової оболонки, які проявлялися порушенням впорядкованого розташування епітеліоцитів в складі епітелію крипт, їх руйнуванням та десквамацією в просвіт з формуванням мікроерозій (рис. 4.12).

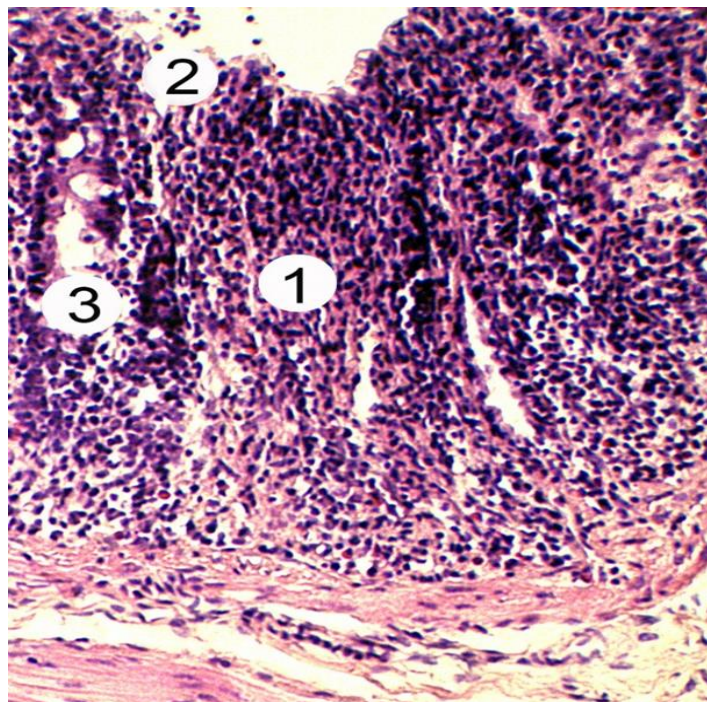


Рисунок 4.12 – Мікроскопічні зміни кишки тварини через 7 місяців за умов хронічного впливу ДМГ. Гіперхромні ядра атипових клітин (1), десквамація епітелію слизової оболонки з формуванням мікроерозій (2), фрагмент крипти (3). Забарвлення гематоксилином і еозином. x 200

Поліморфізм ядер клітин характеризується їх різною, зміненою формою, розмірами, гіперхромією. Встановлено пошкодження базальної мембрани, на

якій розміщена епітеліальна пластинка слизової оболонки кишки. Згідно виявлених змін слизової оболонки можна дати заключення, що в товстій кишці експериментальних тварин розвинулася Аденокарцинома *in situ*.

Проведене гістологічне дослідження печінки лабораторних білих щурів інтактної групи встановили, що орган має загальний план часточково-балкової організації. Міжчасточкова, стромальна волокниста сполучна тканина слабо розвинена, погано розмежовує часточки та визначається переважно в ділянці портальних трактів. Часточка печінки утворена переважно гепатоцитами та клітинами Купфера – макрофагами печінки, рідко зустрічаються клітини Іто і ріт-клітини. Гепатоцити утворюють балки або пластинки, які анастомозують та радіально сходяться і центрі часточки. Гепатоцити – головні клітини печінки, що мають неправильну, полігональну форму, оксифільну цитоплазму, одне або два ядра, в яких визначаються ядерця. Простори між балками гепатоцитів утворені капілярами синусоїдного типу, що зливаються у центральну вену, визначаються вузькі проsvіти жовчних капілярів (рис. 4.13). В гострих кутах часточки наявні тріади або портальні тракти, що утворені міжчасточковими артеріями, венами, жовчними протоками, лімфатичними судинами.

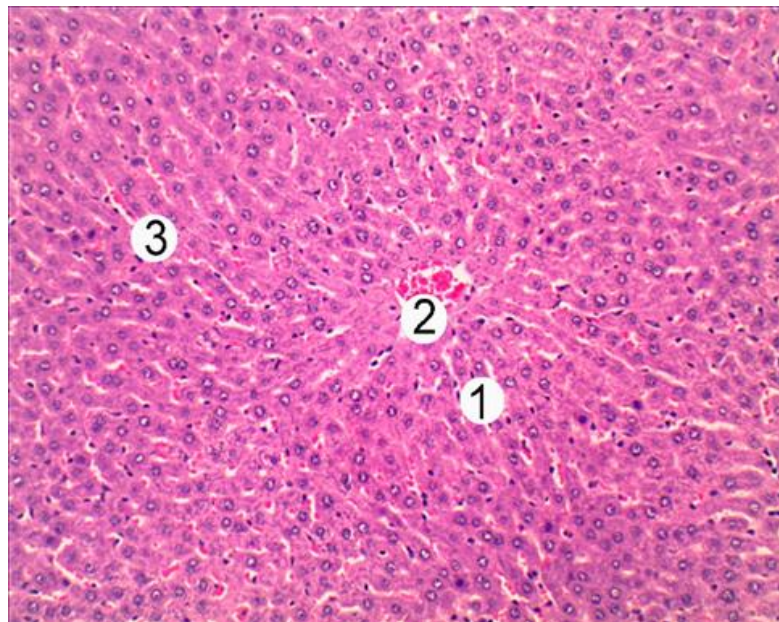


Рисунок 4.13 – Мікроскопічна організація печінки щура інтактної групи.

Балково-часточкове розміщення гепатоцитів (1), центральна вена (2), синусоїдні гемокапіляри (3). Зabarвлення гематоксиліном еозином. $\times 100$

Проведене мікроскопічне вивчення печінки лабораторних тварин через 30 тижнів за умов змодельованого ДМГ встановило значні зміни паренхіматозних, стромальних компонентів органу на тлі судинних розладів. В часточках більшості полів зору наявне порушення впорядкованої часточково-балкової організації, синусоїди як в центролобулярних зонах так і в перипортальних переважно розширені і кровонаповнені. Повнокровними також виявляються центральні і міжчасточкові артерії, виявляється деструктуризація їх стінки. Також наявна перивазальна гістолейкоцитарна інфільтрація. Цитоплазма гепатоцитів слабооксифільна, набрякла, просвітлена (рис. 4. 14). Ядра переважно гіперхромні, рідко визначаються ядерця. Визначається зростання числа активованих макрофагів печінки – клітин Купфера.

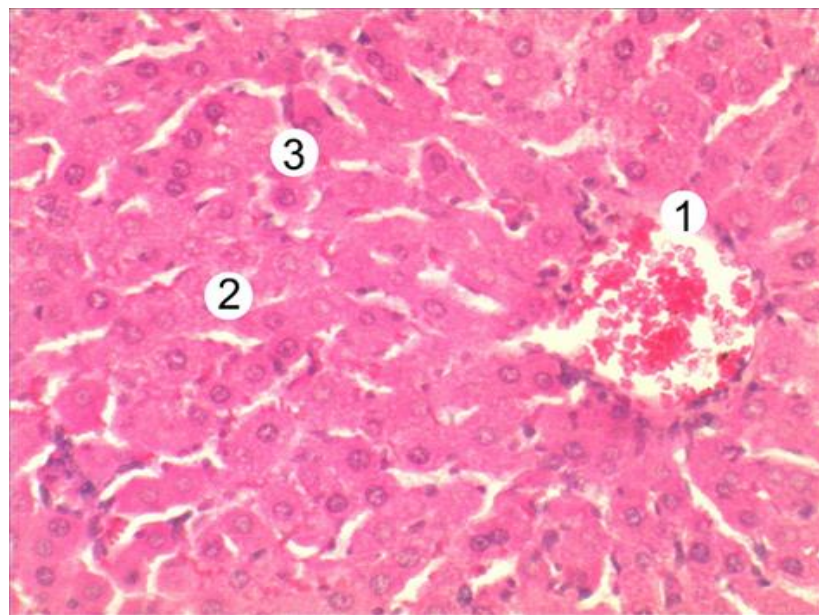


Рисунок 4.14 – Мікроскопічні зміни печінки тварини за умов ДМГ. Розширений, кровонаповнений просвіт центральної вени (1), балки гепатоцитів (2), синусоїди (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 100

Проведені гістологічні дослідження печінки експериментальних тварин за дії ДМГ та введення цитостатика Кселоди через 14 діб встановили значне ремоделювання структурних компонентів органу, що проявлялося порушенням стромально-судинно-паренхіматозних взаємовідношень у ньому (рис. 4.15).

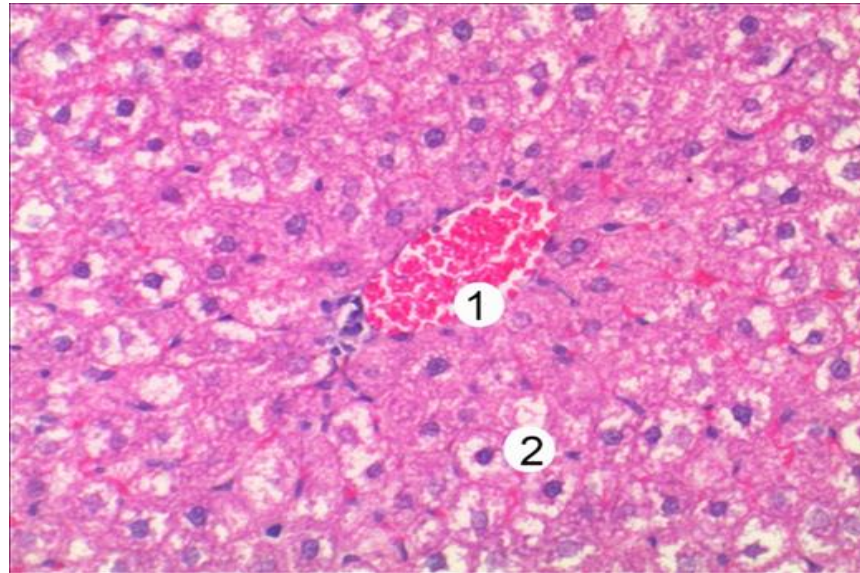


Рисунок 4.15 – Мікроскопічні зміни печінки тварини за умов впливу ДМГ та цитостатика ксилоди через 14 діб. Широкий, кровонаповнений просвіт центральної вени (1), дистрофічні зміни гепатоцитів (2). Забарвлення гематоксиліном і еозином. х 200

Порушення судинного русла в печінці піддослідних тварин проявлялися розширенням та кровонаповненням, особливо центральних та підчасточкових вен. Наповнення синусоїдів кров'ю також було значним, особливо в центроацинозних ділянках. Впорядковане, балкове розміщення гепатоцитів у часточці порушене, їх цитоплазма набрякла, просвітлена, з ознаками вакуольної дистрофії. Ядра переважно гіперхромні, пікнотичні. В просвітах капілярів виявлялися клітини Купфера з темними ядрами. Дифузно в часточці та осередково в ділянці триад виявлялися лейкоцитарні інфільтрати.

Через 21 добу застосування цитостатика Кселоди у щурів з колоректальним раком для більшості судин печінки характерне розширення та кровонаповнення, особливо підчасточкових та центральних вен, їх стінка нечітко контурована. Міжчасточкові вени також були повнокровними. Стінка артерій була потовщена, набрякла, виявлялися паравазальні лейкоцитарні інфільтрати в ділянці триад (рис. 4.16).

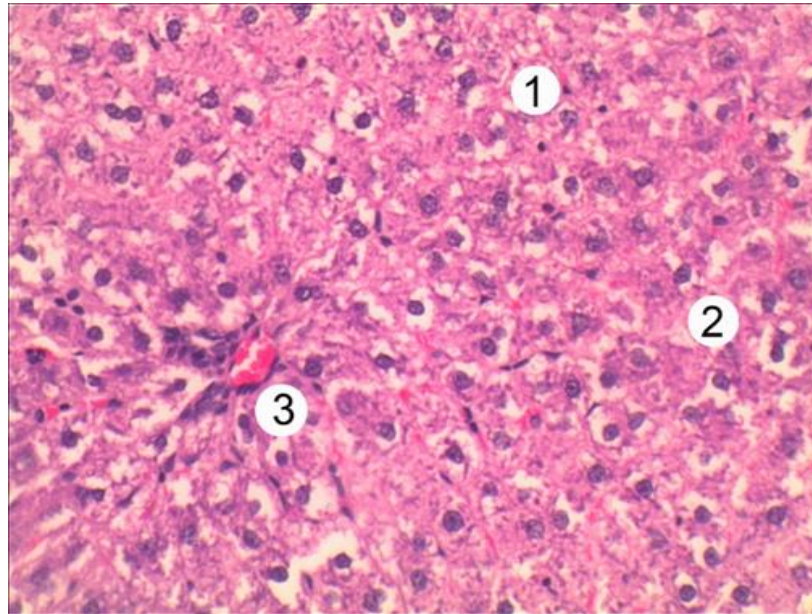


Рисунок 4.16 – Мікроскопічні зміни печінки тварини за умов впливу ДМГ та цитостатика ксилоди через 21 добу. Змінена часточково-балкова будова (1), дистрофія гепатоцитів (2), ділянка тріади (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. x 200

Паренхіма органу також значно змінена, визначається порушення впорядкованої балково-часточкової організації. Більшість синусоїдів мають вузькі спавші просвіти, з гомогенною нечіткою стінкою, однак осередково виявляються різко розширені, кровонаповнені капіляри, подекуди із пошкодженою стінкою та утворенням крововиливів. По всій площі часточок органу виявлялися деструктивно змінені гепатоцити з просвітленою, слабо оксифільною цитоплазмою та гіперхромними, пікнотичними ядрами. У проміжних та особливо в перипортальних ділянках визначалися гепатоцити з ознаками некрозу. В просвітлених зонах ушкодження були наявні активовані макрофаги – клітини Купфера.

Гістологічне вивчення печінки уражених ДМГ тварин через 14 діб застосування Кселоди та Глутаргіну як коригуючого препарату встановило порушення гістоархітектоніки органу та дисциркуляторні розлади однак не так значно як в попередній групі тварин, яким корекцію ДМГ ураження не проводили (рис. 4.17).

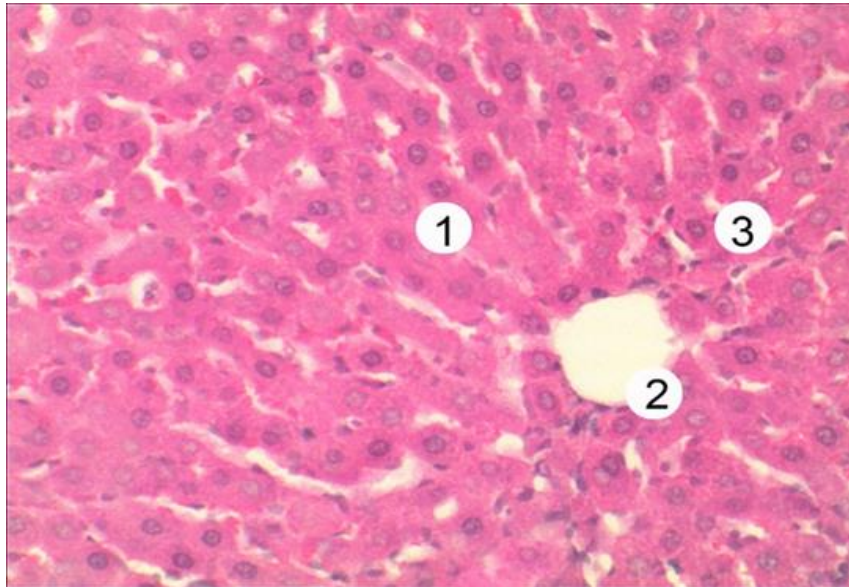


Рисунок 4.17 – Мікроскопічні зміни печінки тварини за умов впливу ДМГ та цитостатика ксилоди через 14 діб і застосуванні глутаргіну. Збережена часточково-балкова організація органу (1), центральна вена (2), помірно розширені просвіти гемокапілярів (3). Забарвлення гематоксилином і еозином.
x 200

Виявляється повнокров'я центральних вен та помірно судин триад, в їх стінці наявний набряк, проте менший в порівнянні з попередньою експериментальною групою. Синусоїди мали помірні просвіти, однак на периферії часточок були наявні значно розширені капіляри із форменими елементами крові в просвітах. Прояви набряку інтерстиційної та периваскулярної сполучної тканини та лейкоцитарні інфільтрати менші порівняно з печінкою тварин попередньої групи. Дисконплектація балок гепатоцитів наявна переважно в центролобулярних зонах часточок. Прояви регенераторних зрушень в органі характеризувалися зменшенням набряку цитоплазми гепатоцитів, ядра більшості клітин були нормохромні, проте визначалися дистрофічно змінені гепатоцити із гіперхромними пікнотичними ядрами.

В уражених ДМГ тварин (30 тижнів) після 21 дня одночасного застосування цитостатика Кселоди та гепатопротектора Глутаргіну спостерігається менший ступінь судинних розладів органу, розширення та

кровонаповнення залишається, переважно для підчасточкових та центральних вен, однак їх стінка чітко контурована зі зменшенням проявів набряку. Для судин портальних трактів характерні також прояви відновлення структури стінки, зменшення набряку та гістолейкоцитарної інфільтрації.

Визначається відновлення впорядкованої часточкової організації балок гепатоцитів. Більшість гемокапілярів мають помірні просвіти, в них спостерігаються переважно еритроцити, поодинокі макрофагальні клітини Купфера. Альтеративні зміни гепатоцитів менш значні, їх плазмолемі чітко виражені, цитоплазма клітин помірно оксифільна без виражених ознак набряку та дистрофії. Більшість ядер помірно базofilні, в окремих клітинах наявний каріопікноз (рис. 4.18).

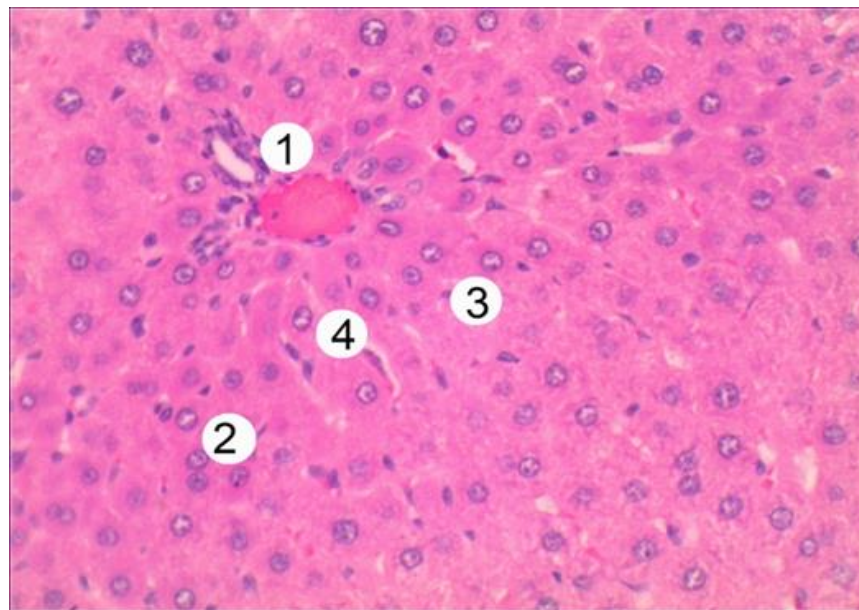


Рисунок 4.18 – Мікроскопічні зміни печінки тварини за умов впливу ДМГ та цитостатика ксилоди через 21 добу та застосуванні глутаргіну. Ділянка тріади (1), гепатоцити з нормохромними ядрами (2), балки гепатоцитів (3), вузькі просвіти гемокапілярів (4). Забарвлення гематоксилином і еозином. x 200

Отже, проведені мікроскопічні дослідження встановили, що за умов індукованого ДМГ колоректального раку після застосування цитостатичного препарату Кселода виявляється реорганізація судинного русла, глибокі

незворотні, деструктивно-дегенеративні зміни паренхіматозних компонентів органу.

За умов застосування гепатопротектора Глутаргіну у щурів з аденокарциномою товстої кишки після введення цитостатика Кселоди на тлі нормалізації гемодинаміки, відбувається поступове відновлення часточково-балкової організації печінки, активна регенерація гепатоцитів, що свідчить про відновлення її функціональної спроможності.

Результати досліджень наведені у даному розділі, дозволяють зробити наступні висновки:

1. Введення 1,2-диметилгідразин гідрохлориду спричиняє підвищення активності органоспецифічних ензимів печінки та міокарда у сироватці крові, а також підвищення відсотку проникності еритроцитарної мембрани, що зумовлено розвитком синдрому цитолізу у експериментальних тварин і може призвести до їх загибелі. Застосування цитостатичного препарату Кселоди протягом 21 дня дещо посилило процеси цитолізу, на що вказувало ще більше зростання активностей амінотрансфераз та лужної фосфатази у сироватці крові щурів.

2. За умов індукованого колоректального раку відмічено дисбаланс у вмісті про- та протизапальних цитокінів. Протягом 7 місяців розвитку ДМГ канцерогенезу вірогідно ($p \leq 0,05$) підвищувався вміст прозапального цитокіну ІЛ-6 (на 256 % до кінця дослідження) та знижувався вміст протизапального цитокіну ІЛ-4 (на 50 % у цей же термін). Застосування Кселоди призвело до більш вираженого дисбалансу у вмісті цитокінів. Введення протягом 21 дня гепатопротектора Глутаргін ураженим щурам, які піддавались цитостатичній терапії, зумовило вірогідне зниження вмісту позапального та підвищення вмісту протизапального цитокінів.

3. Встановлено прогресуюче підвищення вмісту молекул середньої маси протягом 7 місяців розвитку колоректального раку (MCM_{254} у 2,9 раза, MCM_{280} – у 2,8 раза у кінці дослідження). Цитостичний препарат Кселода, який використовувався протягом 21 дня після моделювання раку товстої кишки, призвів до ще більшого підвищення вмісту MCM обох фракцій. У щурів з

індукованим канцерогенезом на тлі введення Кселоди, застосування гепатопротектора Глутаргін сприяло нормалізації рівня ендогенної інтоксикації, а саме зниження вмісту молекул середньої маси, що підтверджується відновленням індексу розподілу (95 % щодо рівня контролю після 21 денного застосування глутаргіну).

Наведені в даному розділі результати, опубліковані в наступних наукових працях [37, 38, 39, 40, 41, 164]

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Статистика багатьох країн свідчить про зростання кількості виявлених випадків раку саме товстої кишки порівняно зі злоякісними новоутвореннями (ЗН) будь-якої іншої локалізації. Тому показники безрецидивного та загального виживання хворих на колоректальний рак (КРР) не зазнали суттєвих змін [204, 213]. У світі КРР являється найбільш поширеною нозологічною формою ЗН, частота якої має тенденцію до швидкого підвищення. У структурі ракових пухлин шлунково-кишкового тракту КРР у поєднанні обох статей знаходиться на третьому місці за частотою захворюваності та становить 9,7% всіх видів раку та на другому за рівнем смертності-8,5% усіх смертей від раку [242].

За даними ВООЗ у світі щорічно реєструється більше 500 тис. випадків колоректального раку. Найбільше хворих на КРР відмічається в США, Канаді, країнах Західної Європи. Менший ріст хворих на КРР в країнах Азії та Африки. Онкологія товстого кишечника займає друге місце в структурі жіночої онкологічної захворюваності, поступаючись раку молочної залози, і третє в структурі чоловічої онкозахворюваності після раку передміхурової залози та легень [238].

Порівняно з країнами Європи Україна за захворюваністю та смертністю від КРР у чоловіків та жінок займає 37-ме місце. Це можна пояснити насамперед тим, що середня тривалість життя у нашій державі невисока: чоловіків — 63 роки, жінок — 72, а пік захворюваності припадає на вік 75–80 років [118].

За даними Національного канцер - реєстру України КРР займає друге місце серед чоловічої захворюваності після раку легень, і третє місце серед жіночої онкозахворюваності після раку молочної залози і раку шкіри [149]. Онкологія товстої кишки займає друге місце серед смертності від ЗН населення України [150].

Серед усіх онкологічних захворювань та смертності КРР продовжує утримувати одну з лідируючих позицій в Україні. Швидкий темп приросту

хворих на колоректальний рак, зрушення у віковому складі пацієнтів за рахунок переважання осіб старше 60 років, збільшення числа хворих із різними ускладненнями та поширенням пухлинного процесу, особливо молодого віку, високі цифри післяопераційних ускладнень і летальності, невисокі показники загального та безрецидивного виживання свідчать про необхідність нагального вирішення цього питання.

Визначним досягненням в області молекулярної біології, біохімії і біотехнології останніх років є встановлення молекулярних механізмів онкогенезу та розробка нових лікарських препаратів цілеспрямованої (таргетної) дії, що селективно блокують протеїни-мішені у пухлинних клітинах, є менш токсичними і більш ефективними порівняно з традиційною неспецифічною хіміотерапією [138].

Індуковані за допомогою певних канцерогенів ракові пухлини у лабораторних тварин дають можливість для дослідження різних аспектів канцерогенезу, які не можуть бути ефективно вивчені безпосередньо на людському організмі [55, 138, 157]. На сьогодні розроблено значну кількість експериментальних моделей спрямованих на розвиток пухлинного росту в різних органах. Однією з них є диметилгідразина модель. Ця модель є ефективною для дослідження особливостей кишкового канцерогенезу та дії різних хіміотерапевтичних агентів. Морфологічні зміни, які виникають у товстій кишці при індукції пухлинного процесу за допомогою 1,2-диметилгідразину (ДМГ), близькі до тих, які мають місце в тканинах людини при розвитку раку товстої кишки [84, 102, 239].

ДМГ є високоспецифічним канцерогеном, який в дозозалежний спосіб викликає розвиток онкогенезу, що в результаті призводить до виникнення раку товстої кишки [108, 207, 233].

Вищенаведені дані виявилися можливими для реалізації на моделі експериментального онкогенезу, індукованого введенням 1,2-ДМГ в організм щурів. Враховуючи зручність такої моделі та її адекватність до розвитку колоректального раку у людини, експериментальне ураження саме цим канцерогеном може бути рекомендовано для використання та вирішення

проблем канцерогенезу – детального вивчення фундаментальних механізмів розвитку та пошук ефективних коригувальних середників за даної патології.

Літературні дані не дають змоги скласти єдину схему молекулярних механізмів розвитку КРР. Залишаються не вивченими порушення взаємозв'язку між інтенсивністю оксидативних та запальних процесів, ендогенної інтоксикації та функціональним станом захисних систем роль у патогенезі неопластичної інтоксикації. Вирішення цих проблем буде сприяти впровадженню в клініку онкозахворювань методів діагностики ступеня тяжкості перебігу раку товстої кишки та нових методів корекції порушень.

При вивченні впливу сполук — потенційних лікарських засобів на змодельовану патологію необхідно враховувати і дію речовини, яка використовується для моделювання даної патології, не лише на органи-мішені, а й на органи, які беруть активну участь у процесах метаболізму даної речовини організмом (печінка, нирки, підшлункова залоза і т.д.). Лише так можна в подальшому коректно оцінити вплив лікарських засобів на даний вид патологій.

Важливим критерієм для розробки протипухлинного лікарського засобу на основі діючої речовини є, поряд з її ефективністю, відсутність негативного впливу на стан організму в разі тривалого застосування [19]. Протипухлинні препарати, що застосовуються сьогодні у медичній практиці, характеризуються низькою вибірковістю дії та високою токсичністю щодо нормальних тканин організму, що є однією з причин низької ефективності хіміотерапії [20].

Органи шлунково-кишкового тракту першими зазнають впливу лікарських препаратів під час перорального застосування, і саме з боку травної системи спостерігається більшість побічних ефектів протипухлинної терапії. Це пов'язано з підвищеною чутливістю епітелію шлунково-кишкового тракту до дії цитостатиків через його високу проліферативну активність, а також із вразливістю печінки, яка першою вступає в процеси детоксикації ксенобіотиків [112].

Медикаментозне ураження печінки становить близько 10% усіх побічних реакцій, пов'язаних із застосуванням цитостатичних препаратів [15, 87, 148,

180, 191]. Насправді гепатотоксичність розвивається, мабуть, частіше, ніж свідчить офіційна медична статистика, оскільки печінка є однією з основних ланок біотрансформації цитостатиків.

За експериментальними даними деяких авторів, можна прийти до висновку, що цитостатичні препарати можуть у декілька разів підсилити чутливість гепатоцитів до ендотоксину [33]. Крім того, дослідниками доведено, що, оскільки виведення шкідливих для печінки речовин за даних умов досить проблематичне, цитостатичні препарати можуть спричинити кумулятивну токсичну дію на її функціональний стан [171, 188, 243].

Токсична дія цитостатиків зумовлена зменшенням екстракції ліків гепатоцитами і пов'язана як з порушенням активності ензимів, так і з порушенням зв'язування з білками плазми крові.

З появою нових високоефективних протипухлинних препаратів, настанням ери високодозової хіміотерапії порушення функції печінки є провідними серед токсичних ефектів хіміотерапії. Найсерйознішим порушенням функції печінки є пригнічення її детоксикуючої функції, а саме збільшення періоду напіврозпаду цитостатиків та їх активних метаболітів в крові, що приводить до пролонгованої підтримки в організмі високих концентрацій препаратів. Монооксидази відіграють основну роль в перетворенні лікарських засобів і одночасно забезпечують детоксикуючу функцію. Зниження ефективності монооксидаз, що настає в результаті пошкодження клітин печінки внаслідок низької селективності дії протипухлинних засобів, призводить до зростання токсичності цих препаратів [6].

Останнім часом дедалі більшої актуальності набуває проблема пошуку нових засобів таргетної терапії раку, дія яких специфічно спрямована на злоякісні клітини з мінімальним побічним ефектом.

Доцільним виявилось дослідити механізми порушень за індукованого онкогенезу та застосувати для їх усунення гепатопротектори після проведення цитостатичної терапії.

Отже, не дивлячись на успіхи у вивченні причин та особливостей онкозахворювань, частота та смертність від них продовжують зростати.

Виходячи з цього, ми поставили за мету з'ясувати особливості метаболічних порушень за експериментального ДМГ-індукованого канцерогенезу, а також оцінити ефективність застосування за даних умов цитостатика Кселоди та гепатопротектора Глутаргін для усунення побічної дії цитостатичної терапії на печінку.

Багато патологічних процесів, у тому числі запалення, ішемічна хвороба, хвороба Альцгеймера, діабет 2-го типу, канцерогенез [208] характеризуються збільшенням продукції активних форм кисню (АФО). Вільнорадикальне окислення зумовлює пошкодження біомакромолекул, зокрема нуклеїнових кислот, основними продуктами окислення яких є 8-гідроксидезоксигуанозин (окислений 2'-гуанін, 8-охоG), формамідопіримідини, 5-гідроксиурацил, що може призводити до загибелі клітин шляхом апоптозу чи некрозу або до злоякісного переродження [184].

Канцерогенез товстої кишки – це багатоетапний процес, що призводить до послідовних змін клітин колончатого епітелію мета-, пренео-, неопластичними перетвореннями [208]. Аберантні крипти Фосі (АКФ) утворюються у кишечнику та можуть стати індикатором виникнення колоректального раку як у людини, так і у тварин. У щурів багаторазове введення 1,2 диметилгідразину викликає формування АКФ, в основному, у дистальній частині кишечника, і з часом вони можуть перетворюватись у злоякісну пухлину [184].

Відомо, що за багатьох патологічних станів відбувається активація ВРП. На клітинному рівні така активізація ВРП характеризується посиленням продукування ВР, серед яких особливе місце належить АФО [128, 152, 145, 178]. Надлишкове утворення АФО призводить до розвитку оксидативного стресу та пошкоджень клітинних компартментів, що поглиблює розвиток патологічного процесу [202, 219].

Розвиток злоякісних пухлин, в тому числі колоректальних, супроводжується оксидативним стресом внаслідок накопичення великої

кількості АФО [231], які стимулюють процеси пероксидного окислення і порушують антиоксидантні захисні системи клітини, що призводить до пошкодження протеїнів, ліпідів та ядерних і мітохондріальних ДНК [31, 182]. З даних літератури відомо, що вільні радикали здатні не лише ініціювати рак, але й беруть участь в прогресії пухлинних клітин, підтримуючи ріст клітин, їхню інвазивність та метастатичний потенціал (за рахунок активації сигнальних шляхів) і порушення експресії генів росту та диференціювання [166, 168].

Деякими авторами показано, що сполуки, які є промоторами пухлинного росту, в тому числі і ДМГ, стимулюють утворення АФО, які викликають порушення окисного гомеостазу і, як наслідок, підвищується вміст продуктів пероксидного окислення. Встановлено, що за умов метаболічної активації ДМГ у печінці та розвитку пухлин (у тому числі колоректальних), порушується рівновага між інтенсивністю дії прооксидантних факторів і потужністю антиоксидантної системи клітин печінки щурів, що призводить до надмірної активації процесів пероксидного окислення ліпідів та окисної модифікації протеїнів гепатоцитів [59, 183].

При надлишковому споживанні кисню, яке характерне при всіх онкологічних захворюваннях, відбувається зростання вмісту продуктів ПОЛ – ТБК-АП [137, 190].

Результати наших досліджень показали, що у щурів з індукованим ДМГ канцерогенезом через 30 тижнів від початку експерименту прогресуюче зростає вміст ТБК-АП у сироватці крові (в 3,5 раза) та печінці (в 2,6 раза) у кінці дослідження щодо тварин контрольної групи.

З літератури відомо, що за умов швидкого розвитку оксидативного стресу й надмірної генерації АФО розвиваються процеси неконтрольованої модифікації протеїнів, які спричиняють їх фрагментацію, денатурацію, а також утворення первинних амінокислотних радикалів, що вступають у вторинну взаємодію із сусідніми амінокислотними залишками. Це призводить до втрати протеїнами їх біологічної активності й порушення обмінних процесів [133, 140, 157, 199, 219, 221].

Дослідження вмісту продуктів ОМП нейтрального та основного характеру в сироватці крові та печінці щурів з експериментальним канцерогенезом показало їх збільшення протягом 7 місяців розвитку колоректального раку.

У щурів з індукованим ДМГ канцерогенезом прогресуюче підвищувався у сироватці крові вміст продуктів ОМП₃₇₀ нейтрального характеру протягом усього експерименту і в кінці дослідження (7 місяців ураження ДМГ) в 4,3 раза перевищував рівень щурів контрольної групи.

Вміст похідних основного характеру 2,4-ДНФГ₄₃₀ аналогічно перевищував відповідний показник контрольної групи впродовж усіх термінів дослідження. Особливо вираженим було підвищення ($p \leq 0,05$) вмісту ОМП₄₃₀ основного характеру на 6-й (2,3 раза) та 7-й (2,5 раза) місяці моделювання канцерогенезу.

Аналогічна тенденція до підвищення спостерігалася при визначенні вмісту 2,4-ДНФГ₃₇₀ і 2,4-ДНФГ₄₃₀ у гомогенаті печінки за умов індукованого онкогенезу впродовж всього експерименту. До кінця експерименту (7-й місяць введення ДМГ) вміст 2,4-ДНФГ₃₇₀ і 2,4-ДНФГ₄₃₀ у печінці підвищився у 2,5 і 2,1 раза відповідно.

Отримані нами дані вказують на те, що, з одного боку, відбувається підвищення чутливості протеїнів до окиснювальної модифікації в процесі розвитку онкопроцесу, з іншого – на зниження швидкості їх деградації шляхом протеолізу. Це може бути наслідком зміни структурної організації протеїнових молекул, порушенням співвідношення металів зі змінною валентністю [221].

На думку багатьох дослідників, кисневозалежне окиснення протеїнів є раннім індикатором пошкодження органів і тканин [113, 133, 221].

Отже, збільшення інтенсивності процесів окислення біологічних молекул може призводити до пошкодження клітин і тканин, що імовірно, грає важливу роль в патогенезі розвитку раку.

Однією з причин активації розвитку ВРП (ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів) за умов даної патології може бути порушення в системі антиоксидантного захисту організму.

Інтенсивність наростання процесів ВРО пов'язана з активністю антиоксидантних ензимів, що утворюють єдиний метаболічний ланцюг, внаслідок функціонування якого відбувається перетворення АФО на воду, спирти та інші нетоксичні для організму метаболіти. Супероксиддисмутаза – є представником першої лінії антиоксидантного захисту і забезпечує переривання ланцюгів кисневозалежних вільнорадикальних реакцій шляхом дисмутації супероксидного аніон-радикала ($O_2^{\cdot-}$) з подальшим утворенням триплетного кисню та пероксиду гідрогену. За нейтралізацію пероксиду гідрогену відповідає гемвмісний ензим каталаза [61, 106, 124].

При дослідженні супероксиддисмутазної активності у печінці щурів встановлено, що за розвитку аденокарциноми товстої кишки СОД активність в тканині печінки вірогідно ($p \leq 0,05$) підвищується у перші місяці введення ДМГ, тоді як починаючи з 6 місяця знижується. Найнижча СОД активність спостерігалась на 7-й місяць введення канцерогену. У цей період вона в 2,1 раза була нижчою щодо контрольних тварин. Такий коливальний характер зміни СОД активності, очевидно, пов'язаний з активним включенням ензиму у захист від вільних радикалів на початкових етапах експерименту. В подальшому зниження активності ензиму може бути зумовлено виснаженням захисно-компенсаторних сил організму. Ще однією причиною зниження СОД активності можуть бути конформаційні зміни у молекулі самого ензиму, які виникають під впливом тривалого введення ДМГ в організм щурів.

Наші дані узгоджуються з результатами досліджень Ю.В.Сороки (2013), де показано, що за умов хронічної неопластичної інтоксикації, зумовленої введенням в організм ДМГ, спостерігається дисбаланс факторів антиоксидантного захисту, а зокрема зниження СОД та каталазної активності, а також вмісту цеулоплазміну в сироватці крові щурів [141, 144, 246].

Ураження ДМГ призводило до зниження каталазної активності в сироватці крові та печінці щурів впродовж експерименту. Поступове зниження процесу знешкодження пероксиду гідрогену, утвореного в результаті супероксиддисмутазної реакції, призводить до інтоксикації ним організму.

Ми відмітили вірогідне ($p \leq 0,05$) зниження КАТ активності в 2,3 раза у сироватці крові та в 2,9 раза у печінці щурів після 7 місячного введення в організм ДМГ.

Проведений кореляційний аналіз між вмістом ТБК-АП та каталазною активністю у сироватці крові щурів з експериментальним канцерогенезом. Встановлено, що через 7 місяців моделювання онкопроцесу між даними показниками існує зворотній негативний зв'язок, на що вказує коефіцієнт кореляції середньої сили $|r = -0,38|$.

Церулоплазмін – купрумвмісний протеїн альфа2-глобулінової фракції крові є один із основних антиоксидантів плазми крові. Особливістю цього протеїну є висока стабільність до токсичної дії АФО, що дозволяє йому зберігати біологічну активність за умов їх інтенсивної генерації [47, 131, 139].

Вміст церулоплазміну неоднозначно змінювався протягом дослідження, проте напрямок цих змін був однонаправлений – у сторону збільшення. Найвищий вміст даного показника відмічено на 5 місяць експерименту, який у 7,7 раза перевищував норму. Мабуть у цей період, у товстій кишці активно почалось формування пухлини й дія церулоплазміну була направлена на знешкодження агресивних ОН радикалів, які при цьому утворювалися. Надалі спостерігалось незначне виснаження даного показника, але він все ще залишався на високому рівні і в кінці експерименту перевищував рівень тварин контрольної групи в 4,4 раза.

Підвищений вміст ЦП зумовлений зниженням активності СОД, так як відомо, що саме цей ензим має здатність видаляти з крові супероксидні аніон-радикали за умов патології. Він викликає дисмутацію O_2 , яка має не ензиматичний, а стехіометричний характер. Таким чином відбувається відновлення O_2 до води, а не до перекисів, на відміну від інших антиоксидантних ензимів [106, 203].

Однією з важливих систем антиоксидантного захисту є глутатіонова система, яка інактивує гідроген пероксиду та ліпопероксидів, виконує захисну функцію для SH-груп у протеїнах мембран. Одним із компонентів цієї системи є глутатіон. Зниження рівня ВГ в органах і тканинах призводило до

оксидативного стресу, що було нами показано за хронічної неопластичної інтоксикації [66, 78, 79].

Починаючи з 3 місяця від початку введення в організм ДМГ вміст ВГ у сироватці крові прогресуюче знижувався й до кінця експерименту (7 місяців) був нижче норми на 45,6 %. Аналогічні зміни відмічено в печінці щурів, уражених впродовж 7 місяців ДМГ. У перші три місяці вміст ВГ у печінці підвищувався, у наступні терміни дослідження даний показник вірогідно ($p \leq 0,05$) знижувався і досяг рівня 49,1 % щодо контрольного рівня на 7-ий місяць експерименту.

Зниження вмісту ВГ, пов'язане як із прямим, так і з ензиматичним зв'язуванням окремих субстратів з тіоловою групою глутатіону та у місці дисульфідного зв'язку окисненого глутатіону. З іншого боку, зниження ВГ також можна пов'язати з виявленою інтенсифікацією процесів ПОЛ в органах щурів за умов експериментального канцерогенезу.

Наслідком зниження вмісту відновленого глутатіону в органах тварин з експериментальним канцерогенезом може бути оксидативний стрес, який призводить до інтенсифікації процесів ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів, а також пригнічення протеїнсинтезувальної функції печінки за даних умов [196].

У літературі є дані, які підтверджують отримані нами результати щодо зниження активності глутатіонової системи, а зокрема вмісту ВГ, в організмі щурів за умов експериментального раку товстої кишки [109, 164].

Незалежно від фактора, який ініціює реакцію окиснення або переокиснення ліпідів, зростає проникність мембран, що призводить до ряду змін в клітині та завершується пошкодженням мембран клітинних органел та виходом ензимів у кров.

Високочутливими показниками стану печінки є активність аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази та лужної фосфатази у сироватці крові [172, 192].

Досліджувані ензими локалізуються в цитозолі та лізосомах гепатоцитів і за змінами їх активності можна оцінити ступінь пошкодження плазматичних і цитоплазматичних мембран клітин печінки [172].

Найвища активність АлАТ у сироватці крові щурів за розвитку колоректального раку була зареєстрована нами на 4 місяць дослідження (в 2,8 раза перевищила рівень контролю), у подальші терміни вона знижувалась і на 7 місяць експерименту була вища від показника контрольних тварин у 1,95 раза. Очевидно, організм поступово почав включати свої адаптаційні можливості, що викликало зниження активності ензиму.

Нами відмічено прямий сильний зв'язок ($r = + 0,76$) при аналізі взаємозв'язку між вмістом ТБК-активних продуктів та активністю АлАТ сироватки крові на 30 тиждень експерименту. Це підтверджує розвиток мембранодеструктивних процесів в залежності від активності окиснювальних процесів, зокрема ліпопероксидації.

Активність АсАТ прогресуюче підвищувалась впродовж 7-ми місяців експерименту і в останній термін дослідження в 3,1 раза перевищила показник контрольної групи.

На нашу думку, таке підвищення активності даного ензиму пов'язане зі стресовою ситуацією, у якій перебували тварини протягом 7 місяців. Відомо, що АсАТ – ензим, який є органоспецифічним для міокарда. Щотижневе введення канцерогену, очевидно, призводило до додаткового викиду в кров катехоламінів, зокрема адреналіну, підвищені дози якого можуть викликати цитоліз кардіоцитів та вихід АсАТ у кров.

За умов розвитку колоректального раку доцільно було дослідити активність лужної фосфатази – маркера функціонального стану печінки. Лужна фосфатаза – цинквмісний металопротеїн, що розщеплює ефіри ортофосфатної кислоти з подальшим утворенням неорганічного фосфору. Ензим локалізується переважно в епітелії жовчовивідних шляхів, плазматичних мембранах гепатоцитів, кістках, кишківнику, нирках, а саме розміщується в клітинах у зв'язаному з плазматичними мембранами стані [34].

Дослідження лужної фосфатази в сироватці крові та гомогенаті печінки щурів, у яких моделювали канцерогенез у товстій кишці вказує на пошкодження мембранних структур гепатоцитів, про що свідчать результати досліджень органоспецифічного ензиму (маркера холестазу).

Нами відмічено підвищення у 2 рази активності ЛФ у сироватці крові через 7 місяців від початку ураження щурів 1,2-ДМГ. У гомогенаті печінки спостерігалось прогресуюче зниження активності ензиму і на 7 місяць розвитку онкопроцесу відмічались вірогідні ($p \leq 0,05$) зміни даного показника (в 1,3 раза нижче рівня контролю).

Наші дані стосовно активності ЛФ узгоджуються із результатами досліджень інших авторів, які показали, що в процесі виникнення та розвитку колоректального раку виникають запальні процеси у печінці, що призводить до зміни проникності плазматичних мембран гепатоцитів та виходу органоспецифічних ензимів у кров [112].

Зростання ЛФ у сироватці крові є типовою ознакою холестазу, одержані нами результати слід розглядати як підтвердження ураження гепатоцитів із проявами запальних процесів, цитолізом та застоєм жовчі в жовчних капілярах і протоках. Основною причиною структурно-функціональних порушень гепатоцитів у пацієнтів онкологічного профілю є синдром ендотоксикозу, що розвивається в результаті пухлинної інтоксикації, бактерійних та вірусних інфекцій, які приєднуються унаслідок масивного лізису пухлинної тканини у відповідь на введення протипухлинних препаратів [50].

Показник рівня МСМ вважають основним біохімічним маркером, що відображає рівень ендотоксемії та патологічного протеїнового метаболізму [95]. Значне підвищення вмісту МСМ у крові при різних патологіях є прогностично несприятливим показником перебігу захворювань [136].

Дослідження рівня МСМ обох фракцій (МСМ₂₅₄ та МСМ₂₈₀) показало, що зміни їх вмісту носять коливальний характер. На початку експерименту відмічалось різке нагромадження цих сполук у сироватці крові, далі – період, коли рівень МСМ істотно не змінювався (2–5 місяці) і, до кінця експерименту

значне нагромадження МСМ, починаючи з 6–7 місяців розвитку онкопроцесу. Нагромадження в сироватці крові МСМ₂₈₀ виявилось дещо пізніше, що свідчить про розвиток СЕІ й призводить до системного ушкодження внутрішніх органів.

Ендогенна інтоксикація може бути зумовлена не тільки нагромадженням у крові токсинів, але й порушенням співвідношення між окремими компонентами речовин низької й середньої молекулярної маси. Індекс розподілу (Ір), який для цього використовується, протягом усіх термінів спостереження незначно зростав і на 7-й місяць моделювання індукованого канцерогенезу в 1,2 раза перевищував рівень контрольних тварин ($p \leq 0,05$).

У літературі є повідомлення про те, що тривале підвищення Ір молекул середньої маси свідчить про наявність синдрому ендогенної інтоксикації, що обумовлено активацією процесів ПОЛ на зростання саме ароматичних амінокислот у МСМ [88, 200], вміст яких збільшується із подовженням терміну інтоксикації.

У патогенезі багатьох захворювань велике значення приділяється запаленню, яке обумовлено імунними механізмами, що підтверджують багаточисленні експериментальні дослідження [13, 14]. За умов канцерогенезу розвивається істотний дефект клітинної ланки імунітету, що спричинено надмірним та незбалансованим синтезом прозапальних та протизапальних медіаторів – інтерлейкінів [2, 3, 13, 14]. Порушення балансу між вмістом цих клітинних медіаторів визначає тривалість, характер перебігу тяжкості патологічного процесу в організмі [71].

У наших дослідженнях відмічено прогресуюче зростання вмісту прозапального ІЛ-6 у групі тварин із змодельованим диметилгідразиним канцерогенезом, який на 7 місяць експерименту в 3,6 раза перевищував рівень такого у щурів без патології. Одночасно спостерігалася тенденція до зниження вмісту протизапального ІЛ-4 у тварин цієї групи в цей же період дослідження (в 1,9 раза).

Такий дисбаланс у вмісті цитокінів та зсув його у сторону прозапальних процесів є вкрай несприятливим фактором в умовах розвитку змодельованого неопластичного процесу.

Дослідження кореляційного взаємозв'язку між вмістом протизапального ІЛ-4 та прозапального ІЛ-6 за умов хімічно індукованого канцерогенезу показало зворотній негативний зв'язок середньої сили ($r = - 0,48$) на 30 тиждень спостереження.

Отримані нами експериментальні дані підтверджуються даними літератури щодо зміни профілю прозапальних цитокінів при онкологічних захворюваннях [71, 145, 159, 161].

Отже, за умов розвитку колоректального раку, індукованого 1,2-диметилгідразином, в організмі щурів відбувається активація процесів вільнорадикального окиснення, зокрема ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів, що призводить до розвитку окиснювального стресу. Інтенсифікація окиснювальних процесів супроводжується нагромадженням як первинних, так і вторинних токсичних метаболітів, внаслідок чого поглиблюється ендогенна інтоксикація, активуються мембранодеструктивні процеси, наслідком яких є зміна проникності клітинних мембран. Все це викликає зміни у захисних системах організму, пригнічується активність антиоксидантної системи (ензимної та неензимної її ланок). Відбуваються зміни в імунній системі організму, на що вказує підвищення у сироватці крові вмісту прозапальних цитокінів, які продукуються макрофагами, що призводить до розвитку запальних процесів під час формування пухлини (рис. 5.1).

Таким чином, підводячи підсумок можна стверджувати, що первинною реакцією на потрапляння в організм канцерогену є активація вільнорадикальних окиснювальних процесів, які призводять до розвитку оксидативного та стресу, поглиблення ендогенної інтоксикації та запальних процесів, змін у захисних системах організму.

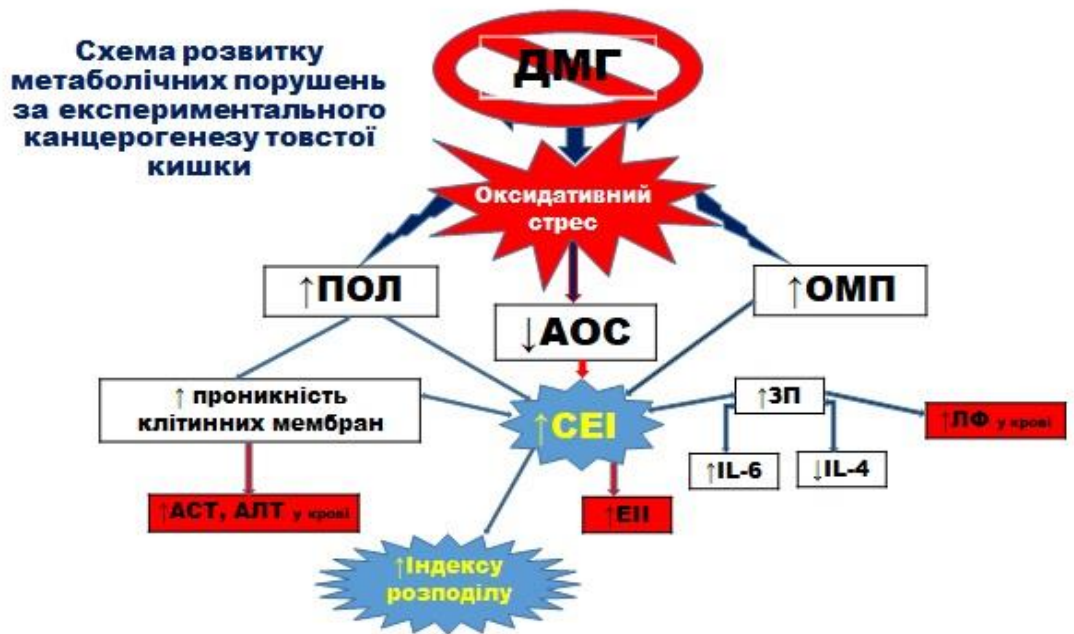


Рисунок 5.1 – Схема розвитку метаболічних порушень за експериментального канцерогенезу товстої кишки

У зв'язку з отриманими результатами та дослідженими механізмами розвитку метаболічних порушень в організмі щурів з колоректальним раком, виникла проблема їх корекції.

Постійне зростання захворюваності на злоякісні новоутворення, недостатня ефективність лікування, збільшення контингентів хворих онкологічного профілю змушують не залишати наукові пошуки у цій галузі. Значне місце у лікуванні пацієнтів зі злоякісними новоутвореннями різних локалізацій займає хіміотерапія.

Незважаючи на наявність великої кількості лікарських засобів, що використовуються для лікування онкохворих, одними з найбільш актуальних є цитостатичні препарати. Цитостатики здатні за допомогою різних механізмів пригнічувати ріст пухлини і не проявляти побічних ефектів в організмі, зокрема на печінку, так як лікарська речовина або її метаболіт можуть стати гаптенем для протеїнів печінкової паренхіми, викликаючи її імунне пошкодження.

Печінка є органом, де метаболізується більшість цитостатиків [170]. У літературі зустрічається значна кількість даних, що демонструють участь монооксигеназ печінки в їх метаболізмі. Виснаження системи цитохрому P450,

яка безпосередньо бере участь у метаболізмі медикаментів, призводить до зниження виведення токсичних компонентів, що надходять в організм. Викликає їх накопичення в органах та тканинах, порушує знешкодження ендогенних продуктів метаболізму або спричиняє утворення вторинних, іноді ще токсичніших, ніж початковий продукт, речовин. Зниження ефективності системи цитохрому P450 призводить до підвищення токсичності цитостатичних препаратів [50, 112].

Деякі препарати цитостатичної дії посилюють наявні порушення функціонального стану печінки, спричинюють розвиток холестазу, при цьому не впливають на протеїно- та ліпідосинтезуючу функцію печінки, а також не приводять до статистично значимих збільшень в крові показників ендотоксикозу [69, 84, 218].

В розвитку цитостатичного ураження печінки важливе місце займає активація процесів ПОЛ, зниження антиоксидантного захисту та підвищення активності лізосомальних ензимів. Тому є очевидним застосування гепатопротекторних засобів з антирадикальною активністю для корекції цитостатичної гепатотоксичності [16, 98, 111].

У наших експериментах як засіб цитостатичної дії ми використали препарат Кселода. Даний препарат зареєстрований більше, ніж у 90 країнах світу, включаючи країни Євросоюзу, США, Японію, Австралію й Канаду, зарекомендував себе як ефективний, безпечний та зручний для перорального застосування засіб.

Капецитабін (Кселода) – фторпіримідиновий карбамат – є інактивною продраг-формою фторурацилу, всмоктується в ШКТ (100%-на біоеквівалентність). У печінці Кселода, завдяки ензиму карбоксил-естеразі, перетворюється спочатку в 5-дезоксифторпіримідин, а потім в печінці й пухлинах – у 5-дезоксифторуридин. Найважливіший етап метаболізму проходить в пухлинах за участі тимідин-фосфарилази (ТФ) – перетворення дезоксифторуридину в 5-фторурацил. Оскільки експресія ТФ в пухлинах значно вища, ніж у нормальних тканинах, концентрація 5-фторурацилу в них в

100 разів більша, ніж у слизових шлунка, кишечника та інших тканинах. Протипухлинну дію проявляє фторурацил, який призводить до пригнічення тимідилат-синтетази й виключенню ди- й трифосфатних метаболітів з ДНК і РНК з порушенням їх синтезу та функції [50].

Для усунення побічної дії на печінку цитостатика Кселоди ми застосували гепатопротектор Глутаргін.

Відомо, що Глутаргін є сіллю L-аргініну та глютамінової кислоти, які відіграють важливу роль у забезпеченні біохімічних процесів нейтралізації й виведення з організму високотоксичних метаболітів обміну азотовмісних речовин. Даний препарат є гепатопротектором, що поліпшує енергетичний обмін, проявляє антиоксидантну і мембраностабілізуючу дію відносно гепатоцитів за рахунок зниження активності цитолітичних ензимів [111].

Дослідження процесів ліпопероксидації у щурів із індукованим канцерогенезом після застосування цитостатичної терапії протягом 21 дня показало, що вміст ТБК-АП у даної групи щурів на 22 % перевищував вміст показника у сироватці крові щурів з канцерогенезом, у печінці – на 15 %. Це засвідчило негативний вплив цитостатика на печінку, що можливо пов'язано з порушенням його детоксикації в цьому органі. Після застосування протягом 21 дня Глутаргіну ми відмітили зниження продуктів ПОЛ в 1,8 раза в обох досліджуваних тканинах щодо щурів з колоректальним раком.

У щурів із індукованим канцерогенезом застосування цитостатика Кселоди впродовж 21 дня призвело до значного зростання активності процесів ОМП й утворення альдегідо- та кетопохідних нейтрального та основного характеру в сироватці крові та печінці щодо групи уражених ДМГ тварин, які даний препарат не отримували. У щурів з індукованим канцерогенезом, яким на тлі цитостатичної терапії застосовували гепатопротектор Глутаргін, вміст продуктів ОМП вірогідно ($p \leq 0,05$) знижувався як у сироватці крові, так і в печінці.

Отже, застосування цитостатичної терапії в умовах експериментального онкогенезу супроводжується посиленням вільнорадикальних процесів в

організмі тварин, що потребує додаткового введення засобів з антиоксидантними та гепатозазисними властивостями. Використаний з цією метою Глутаргін проявив позитивний вплив на процеси ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів, що підтвердило його гепатопротекторні властивості, реалізація яких, очевидно, відбувається через антиоксидантний ефект за рахунок амінокислот, що входять до складу даного засобу.

Оксидативний стрес розглядають як зрушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в бік прооксидантної реактивності на тлі послаблення резервів антиоксидантного захисту [85, 86]. Дисбаланс у системі оксидативний стрес – антиоксидантний захист є однією з патологічних ланок багатьох захворювань.

Нами доведено, що за умов розвитку колоректального раку розвивається оксидативний стрес, що узгоджується з дослідженнями багатьох науковців [113]. Застосування цитостатичної терапії призвело до ще більшої активації окиснювальних процесів. Доцільним виявилось за цих умов дослідити стан захисних систем організму у відповідь на введення цитостатиків в організм щурів з індукованим канцерогенезом.

АФО інгібують активність ензимів-антиоксидантів. Кожен із трьох основних ензимів АОС – СОД, КАТ і ГПО - інгібуються одним із продуктів їх ензиматичної реакції: СОД – пероксидом гідрогену (H_2O_2), КАТ – супероксидним радикалом ($O_2^{\bullet-}$), а ГПО – продуктами ПОЛ [57]. Водночас КАТ і ГПО захищають СОД від інактивації, знищуючи H_2O_2 . Така спільна дія ензимів в організмі за умов оксидативного стресу підтримує не тільки їхню біологічну активність, але і захищає від надмірних концентрацій АФО [81, 90]. В умовах оксидативного стресу спостерігають порушення збалансованості дії ферментів АОС, це призводить до зниження буферної ємності ензимної ланки АОС і, як наслідок, додаткового підвищення АФО. Деякі антиоксиданти можуть виступати як прооксиданти в умовах оксидативного стресу.

В умовах індукованого канцерогенезу після застосування цитостатика Кселоди ми дослідили СОД та каталазну активність. Через 7 місяців від

початку моделювання онкогенезу відмічено максимальне зниження обох показників у печінці щурів. Застосування Кселоди протягом 21 дня призвело до ще більшого зниження СОД активності (в 1,5 раза), порівняно з групою тварин з ДМГ- ураженням. Таке зниження може бути пов'язане з конформаційними змінами молекули ензиму, що приводить до втрати ним своїх функціональних властивостей. Однією з причин цього є гепатотоксичність використаного нами цитостатика [89, 122].

Аналогічні зміни відмічались при дослідженні КАТ активності у сироватці крові, що, очевидно, зумовлено токсичною дією цитостатичних препаратів на форменні елементи крові, зокрема, еритроцити.

Застосований нами гепатопротектор Глутаргін для відновлення функціональної спроможності печінки призвів у кінцевому терміні експерименту (7 місяців ураження ДМГ та 21 день застосування Кселоди та гепатопротектора глутаргіну) до підвищення СОД активності у печінці на 40 % щодо тварин з колоректальним раком та лікованих цитостатиком. Паралельно відмічено підвищення КАТ активності у сироватці крові щурів у 1,7 раза, у печінці – в 2,2 раза щодо групи тварин, у яких змодельований канцерогенез на тлі застосування цитостатика Кселоди протягом 21 дня.

Глутатіонова антиоксидантна система, складовими елементами якої є власне глутатіон і ензими, що каталізують реакції його зворотного перетворення (окиснення ↔ відновлення) забезпечує участь глутатіону і зв'язаних з ним систем у процесах біотрансформації та детоксикації токсичних речовин. Саме цю систему можна розглядати як один із елементів загальних механізмів, що визначають стійкість організму до негативної дії токсинів [146]. Важливою функцією глутатіону є утворенням змішаних дисульфідів з протейінами, що може бути додатковим елементом регуляції біологічних процесів [31].

У динаміці розвитку канцерогенезу спостерігалось прогресуюче зниження вмісту ВГ у сироватці крові щурів, що узгоджується з результатами досліджень інших авторів [11,104, 232].

Використаний нами препарат цитостатичної дії Кселода призвів до ще більшого зниження даного показника. Введення даного засобу протягом 21 дня щурам з онкопроцесом викликало зниження вмісту ВГ до 48,0 %. Аналогічні зміни вмісту ВГ зареєстровано в печінці щурів з онкопроцесом. Ураження щурів ДМГ протягом 7 місяців призвело до зниження даного показника у печінці. Після застосування Кселоди вміст ВГ знизився ще більше і досяг рівня 42 % щодо щурів контрольної групи.

Відомо, що синтез компонентів глутатіонової системи відбувається у печінці, отже зниження одного з її компонентів може свідчити про глибокі порушення синтезувальної функції даного органа і бути проявом побічної дії застосованого цитостатика. Це зумовило нас застосувати за даних умов гепатопротектор Глутаргін, який проявив позитивний вплив на неензимну ланку глутатіонової системи. Після 21 денного введення в організм гепатопротектора вміст ВГ підвищився у сироватці крові уражених щурів незначно, у печінці – на 35 %.

Дослідження показників ензимної та неензимної ланки антиоксидантної системи у щурів з онкопроцесом виявило зміни їх активності протягом усього експерименту. Застосована нами Кселода призвела до ще більш виражених змін даних показників, що підтвердило побічний вплив цитостатика на печінку та зробило доцільним використання за даних умов гепатопротектора Глутаргіну. Останній виявився ефективним щодо показників окиснювального стресу в організмі щурів з канцерогенезом, що підтверджує його гепатопротекторні властивості, реалізація яких, на нашу думку, відбувається за антиоксидантним механізмом.

Органи шлунково-кишкового тракту першими зазнають впливу лікарських препаратів під час перорального застосування, і саме з боку травної системи спостерігається більшість побічних ефектів протипухлинної терапії. Високочутливими показниками стану печінки є активність аланінамінотрансферази, аспартатамінотрансферази та лужної фосфатази у сироватці крові [30].

Із літературних джерел відомо, що рівень активності ензимів корелює зі ступенем пошкодження, який може зростати від патологічного посилення проникності мембрани клітин до некрозу [7, 8, 9].

У попередніх наших експериментах доведено, що в умовах індукованого ДМГ онкогенезу в сироватці крові щурів підвищується активність АлАТ, АсАТ та ЛФ – індикаторних ензимів печінки. Окрім того, зростання активності ЛФ у сироватці крові є типовою ознакою холестазу та підтвердженням ураження гепатоцитів із проявами запальних процесів [136]. З подовженням терміну експерименту дані показники зазнають максимального підвищення. Одночасно відмічалось зниження їх активності ензимів у печінці тварин з колоректальним раком.

Після введення в уражений організм цитостатика Кселоди у сироватці крові щурів на 21 день експерименту спостерігалось максимальне підвищення активності мембранозв'язаних ензимів. Натомість у печінці тварин у цей термін дослідження ми відмітили найнижчі показники активності ензимів, що підтверджує гепатотоксичний вплив даного цитостатичного препарату.

Виникла потреба у захисті печінки від шкідливої дії значної кількості токсичних метаболітів, які утворюються в процесі формування пухлини, а також у процесі детоксикації цитостатичних препаратів за участі мікосомальних монооксигеназ. З цією метою ми використали гепатопротектор Глутаргін, який після потрапляння в уражений організм призвів до відновлення активності органоспецифічних ензимів (АлАТ та ЛФ) у печінці. Зниження активності цитолітичних процесів підтверджено зниженням активності АлАТ та АсАТ у сироватці крові щурів з колоректальним раком після проведення цитостатичної терапії, які протягом 21 дня отримували гепатопротектор. Отримані нами експериментальні дані підтверджують позитивний вплив Глутаргіну на функціональний стан печінки за індукованого канцерогенезу.

Отже, застосування гепатопротектора Глутаргін є доцільним для онкохворих, які приймають хіміотерапевтичні середники, що дозволяє знизити

ризик побічної дії цитостатичних препаратів на печінку, чим полегшує перебіг захворювання.

З літератури відомо, що окисний стрес, який активується за різних патологічних станів [88], призводить до активації мембранодеструктивних процесів, зростання ендотоксикозу та виникнення поліорганної недостатності.

Нами досліджена проникність мембран еритроцитів як одного з маркерів ендотоксикозу після моделювання у щурів аденокарциноми товстої кишки. Відмічено збільшення відсотку проникності еритроцитарної мембрани на 7 місяць експерименту на 62, 9 % щодо рівня контрольних тварин. Застосування Кселоди (21 день), як одного із препаратів цитостатичної терапії, призвело до зниження ЕП на 14,4 % відносно групи тварин, уражених протягом 7 місяців ДМГ.

У групі щурів із колоректальним раком, які поряд із цитостатиком Кселодою отримували гепатопротектор Глутаргін, ми відмітили, що відсоток проникності еритроцитарної мембрани наближався до рівня контролю і лише на 9,6 % відрізнявся від нього. Це засвідчило позитивний вплив гепатопротектора на проникність плазматичних мембран еритроцитів, що може бути зумовлено мембранопротекторними властивостями Глутаргіну, очевидно, за рахунок амінокислот, які входять до його складу.

Найбільш перспективним для поглибленого вивчення ендогенної інтоксикації в якості субстратів є молекули середньої маси, які мають пряму мембранотоксичну дію [94, 95].

За умов ДМГ-індукованого канцерогенезу відмічалось прогресуюче підвищення вмісту МСМ обох фракцій. До кінця експерименту даний показник підвищувався в 2,8-2,9 раза у сироватці крові щурів. Застосування цитостатика Кселоди впродовж 21 дня призвело до ще більшого підвищення даного показника щодо рівня уражених ДМГ тварин в останній місяць дослідження. Через 21 день застосування Кселоди вміст МСМ₂₅₄ підвищився на 30 %. Аналогічне підвищення відмічалось і при дослідженні МСМ₂₈₀ у сироватці крові щурів з канцерогенезом, які отримували цитостатик. У групі щурів з

канцерогенезом, які одночасно отримували Кселоду та глутаргін відмічалось вірогідне ($p \leq 0,05$) зниження у сироватці крові вмісту МСМ обох фракцій, що підтверджує позитивний вплив гепатопротектора на даний показник. На нашу думку, застосування Глутаргіну опосередковано впливає на показники ендогенної інтоксикації через пригнічення окиснювальних процесів та зменшення кількості ендогенних токсинів, що при цьому утворюються.

Для оцінки співвідношення між вмістом молекул середньої молекулярної маси був розрахований індекс розподілу (I_p). У щурів, яким протягом 7 місяців вводили ДМГ, та в групі щурів, які на тлі розвинутого онкопроцесу 14 і 21 день отримували цитостатик Кселоду, рівень I_p знаходився на одному рівні. При дослідженні рівня I_p у сироватці крові щурів, яким вводили канцероген і які отримували одночасно Кселоду та гепатопротектор Глутаргін, спостерігався позитивний вплив останнього на даний показник. Індекс розподілу у цієї групи тварин вірогідно знижувався. Це може вказувати на зниження тяжкості перебігу патологічного процесу.

Виявлені порушення окиснювальних та мембранодеструктивних процесів, а також нагромадження ендогенних токсинів за умов ДМГ-індукованого канцерогенезу призвели до розвитку запалення в організмі тварин. Це підтверджується дисбалансом про- та протизапальних цитокінів.

У проведених дослідженнях відмічено прогресуюче зростання вмісту прозапального $IL-6$ у групі тварин із змодельованим диметилгідразиновим канцерогенезом на тлі зниження вмісту протизапального $IL-4$. Наші дані узгоджуються з результатами інших авторів, які показали, що за експериментального канцерогенезу активуються запальні процеси в організмі [114].

За умови поєднаного впливу ДМГ та цитостатика Кселоди спостерігалась аналогічна, але більш виражена тенденція змін вмісту про- та протизапальних цитокінів, що підтверджує негативний вплив цитостатичної терапії й виникнення побічних реакцій в організмі. Застосування Глутаргіну сприяло вираженому зниженню вмісту прозапального цитокіну та підвищенню вмісту

протизапального цитокіну у сироватці крові щурів з канцерогенезом на тлі цитостатичної терапії. Очевидно, такий його вплив проявляється опосередковано, через зниження активності окиснювальних процесів в ураженому організмі.

Таким чином, проведені експериментальні дослідження дозволили виявити першочергові порушення, які виникають за розвитку колоректального раку в організмі щурів. Це зумовило використання за даних умов цитостатичної терапії з метою пригнічення розвитку пухлини, але й одночасно призвело до виникнення побічного впливу Кселоди на організм, зокрема підтвердило її гепатотоксичність. Доцільним та необхідним в цих умовах виявилось застосування гепатопротектора Глутаргіну, який проявив позитивний вплив на виявлені порушення. Все це дозволило запропонувати використання гепатопротекторів паралельно із проведенням цитостатичної терапії з метою усунення її побічного впливу на організм, що полегшить перебіг захворювання у онкохворих.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вперше наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуальної наукової задачі щодо встановлення особливостей перебігу окиснювальних процесів, стану захисних систем організму та ступеня ендогенної інтоксикації за умов індукованого 1,2–диметилгідразином онкопроцесу після застосування цитостатика Кселоди. Експериментально обґрунтовано застосування гепатопротектора Глутаргін з метою усунення побічної дії цитостатичної терапії. За результатами проведених досліджень зроблено такі наукові висновки:

1. За умов розвитку аденокарциноми товстої кишки, індукованої 1,2-диметилгідразином, активуються процеси ліпопероксидації, що підтверджується підвищенням у сироватці крові та печінці вмісту ТБК-активних продуктів (через 30 тижнів від початку ураження в 3,5 раза та 2,6 раза відповідно). Одночасно у даних тканинах прогресуюче підвищується вміст 2,4-динітрофенілгідразонів як основного, так і нейтрального характеру, маркерів процесів окиснювальної модифікації протеїнів. У кінці дослідження у сироватці крові вміст продуктів нейтрального характеру збільшився в 4,3 раза, основного в 2,5 раза щодо тварин контрольної групи ($p \leq 0,05$). З розвитком окиснювального стресу в щурів з неопластичною інтоксикацією виникають порушення в антиоксидантній системі, на що вказує пригнічення супероксиддисмутазної активності у печінці через 7 місяців від початку ураження 1,2-диметилгідразином у 2,1 раза щодо норми, каталазної – у 2,9 раза, відновленого глутатіону на 51 % щодо контрольного рівня.

2. Індукований онкогенез супроводжувався змінами активності маркерних ензимів печінки протягом усього терміну дослідження. У сироватці крові щурів, уражених диметилгідразином, відмічено підвищення активності аланінамінотрансферази у 2,8 раза на 4 місяць розвитку канцерогенезу та в 2 рази у кінці дослідження (7 місяць), аспартатамінотрансферази на 30-ий тиждень експерименту – в 3 рази. У кінцевий термін дослідження у сироватці крові підвищилась активність лужної фосфатази у 2 рази у щурів із

змодельованою патологією. У печінці, уражених канцерогеном щурів відмічалось зниження активності органоспецифічних ензимів. В умовах експериментального онкопроцесу відмічено підвищення відсотку проникності еритроцитарних мембран (на 63 % через 7 місяців дослідження), що свідчить про розвиток цитолітичного процесу в уражених диметилгідразином щурів.

3. На поглиблення ендогенної інтоксикації в умовах індукованого онкогенезу вказує підвищення у сироватці крові вмісту молекул середньої маси з переважанням аліфатичних амінокислот (у 2,9 раза через 7 місяців від початку моделювання аденокарциноми) та ароматичних амінокислот (у 2,8 раза у кінці експерименту). При дослідженні індексу їх розподілу встановлено, що через 30 тижнів потрапляння до організму щурів канцерогену він збільшився на 23 % ($p \leq 0,05$), що свідчить про наявність синдрому ендогенної інтоксикації в уражених тварин.

4. За умов індукованого колоректального раку відмічено дисбаланс у вмісті про- та протизапальних цитокінів. Протягом 7 місяців розвитку експериментального канцерогенезу вірогідно ($p \leq 0,05$) підвищувався вміст прозапального цитокіну IL-6 (на 256 % до кінця дослідження) та знижувався вміст протизапального цитокіну IL-4 (на 50 % у цей же термін).

5. Виявлені порушення метаболічних процесів у щурів з експериментальним канцерогенезом підтверджені структурно-морфологічними змінами у товстій кишці та печінці. Проведені мікроскопічні дослідження стінки товстої кишки експериментальних тварин через 7 місяців змодельованого канцерогенезу встановили диспластичні зміни слизової оболонки з формуванням мікроерозій, пошкодження базальної мембрани, що вказує на розвиток Аденокарцинома *in situ*. В умовах експериментального канцерогенезу відзначені виражені структурні зміни печінки, що характеризуються судинними розладами, порушенням дольково-балочної організації органу, пошкодженням ядер, плазматичних і органоїдних мембран гепатоцитів. Ще більшого пошкодження зазнавала структура печінки тварин, яким вводили цитостатик Кселоду на тлі змодельованого хімічного онкопроцесу.

6. Використання хіміотерапевтичного препарату Кселоди призвело до більшого наростання оксидативного стресу, що супроводжується незначним зростанням вмісту ТБК-активних продуктів та 2,4-динітрофенілгідрозонів в тканинах досліджуваних органів, а також зниженням СОД активності у гомогенаті печінки (в 3,2 раза порівняно з контролем, тоді як в уражених диметилгідразинном щурів даний показник знизився тільки у 2,1 раза). Після застосування Кселоди незначно знижувалась каталазна активність та вміст відновленого глутатіону у сироватці крові та печінці щодо групи уражених щурів.

7. Застосування Кселоди посилювало підвищення активностей органоспецифічних ензимів (аланін- та аспартатамінотрансферази) й еритроцитарного індексу інтоксикації, що підтверджує активацію цитолітичних процесів в ураженому організмі. Відмічено підвищення вмісту молекул середньої маси у сироватці крові щурів, які отримували цитостатик порівняно із групою тварин, які були уражені диметилгідразинном. В уражених тварин, які отримували Кселоду протягом 21 дня, підвищився вміст ІІ-6 у 3,8 раза ($p \leq 0,05$) порівняно з контролем і на 28 % ($p \leq 0,05$) перевищив рівень тварин, у яких змодельований канцерогенез. Виявлені зміни після застосування цитостатика вказують на його побічну дію, що проявляється гепатотоксичністю.

8. Використаний з метою усунення побічної дії цитостатика гепатопротектор Глутаргін проявив ефективний вплив на процеси вільнорадикального окиснення, показники антиоксидантної системи, призвів до зниження проявів ендогенної інтоксикації та нормалізації проникності плазматичних мембран гепатоцитів та еритроцитів за умов експериментального канцерогенезу. Використання Глутаргіну помітно зменшує структурні зміни печінки, активізує в них процеси репаративної регенерації. Нормалізація судинної системи, дольково-балочної структури печінки, ядер і органел цитоплазми гепатоцитів, є свідченням відновлення функцій досліджуваного органу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Аксьонова П, Білай ІМ. Перспективи використання лікарських засобів рослинного походження у комплексній терапії атеросклерозу. Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2013; 12 (2): 74–76.
2. Андрейчин СМ, Лотоцька СВ, Мерецький ВМ. Зміни показників цитокінової ланки імунітету у хворих на ХОЗЛ при застосуванні ентеросорбції. Інфекційні хвороби. 2015;3:44-47.
3. Андрейчин СМ, Скірак ЗС. Вплив глутаргіну на зв'язувальну функцію сироваткового альбуміну та інші показники функціонального стану печінки при гострому токсичному гідразиновому гепатиті. Медична та клінічна хімія. 2014; 4 (16): 66–69.
4. Баныра ОБ, Строй АА, Шуляк АВ. Маркеры опухолевого роста в диагностике рака. Экспериментальная и клиническая урология. 2011; 4: 72–78.
5. Бабак ОЯ. Глутаргин – фармакологическое действие и клиническое применение. АМН Украины. Инт терапии АМН Украины, Киев. мед. акад. последиплом. образования им. П.Л. Шупика. – Х.; Луганск: Элтон - 2, 2005: 455.
6. Баласанянц Г.С. Побочные действия противотуберкулезных препаратов и методы их устранения/ Г.С. Баласанянц, Д.С. Суханов, Д.Л. Айзиков.- СПб., 2011, - 88с.
7. Баныра ОБ. Маркеры опухолевого роста в диагностике рака. Экспериментальная и клиническая урология. 2011; 4: 72–78.
8. Белицкий Г А. Химический онкогенез и его развитие. Современ. проблем. токсикологии. 2011; 3: 5–21.
9. Белицкий ГА. Химический канцерогенез. Современные проблемы токсикологии. 2010; 2: 5–21
10. Бережная НМ. Система интерлейкинов и рак. Киев.: Наукова думка, 2000; 224 с.
11. Біленко О, Руденко М, Леус І, Бабій С, Скорік О, Штеменко Н. Дослідження системи глутатіону за умов гальмування пухлинного росту.

Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2013;62:68-74.

12. Бойко ЛА, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Динаміка активності антиоксидантної системи після застосування мексидолу в умовах одночасного ураження щурів карбофосом і тетрахлорметаном. Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія : Біологія. 2014; 4 (61): 128—133.

13. Бойко ТЙ, Стойкевич МВ, Сорочан ОВ, Толстикова ТМ, Мосалова НМ, ЕгороваСЮ. Роль цитокінової ланки імунорегуляції у формуванні ендотеліальної дисфункції при хронічних запальних захворюваннях товстої кишки. Буковинський медичний вісник. 2014;1(3):19-23.

14. Бойко ТЙ, Стойкевич МВ, Сорочан ОВ. Цитокінова ланка імунорегуляції при гострих запальних захворюваннях товстого кишечника. Буковинський медичний вісник. 2011;15(2):189-192.

15. Болезни печени и желчевыводящих путей (2002) Под ред. В.Т. Ивашкина. Москва, 432 с.

16. Бондаренко І.М., Завізіон В.Ф., Артеменко М.В., Завізіон М.Б. Можливості удосконалення терапії супроводу при цитостатичному лікуванні пухлин. Медичні перспективи, 2012 – №4. С. 3-10.

17. Бородіна ТВ. Порівняльний аналіз ефективності антралю, тіотриазоліну, силібору, фламіну та холосасу при ураженнях печінки різного генезу (експериментально-клінічне дослідження): автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.03.05 / Українська фармацевтична академія МОЗ України. Київ, 1999: 20.

18. Бурдак КС, Ярних ТГ, Борщевська МІ. Гепатопротектори в лікуванні захворювань печінки: порівняльна характеристика. Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології : зб. наук. пр. Харків, 2016; 734–738.

19. Бурлака А. П., Сидорик Є. П. Радикальні форми кисню та оксиду азоту при пухлинному процесі. – К.: Наук. думка, 2006. – 228 с.

20. Бурлака Є. А. Окисно-індуковані порушення при артеріальній гіпертензії у дітей та підлітків і їх корекція: автореф. дис. .. канд. мед. наук. – Київ, 2009. 28 с.

21. Бурместер ГР. Наглядная иммунология. Перевод с английского. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2007; 320 с.
22. Бусалаева ЕИ, Тарасова ЛВ, Матвеева ТС. Гепатопротекторы в клинической практике. Алгоритм выбора. Здоровоохранение Чувашии. 2015; 2: 56–64.
23. Бюлетень Національного канцер-реєстру № 20 - "Рак в Україні, 2017-2018" Jemal, A., F. Bray, M.M. Center, J. Ferlay, E. Ward and D. Forman, 2011. Global cancer statistics. CA: Cancer J. Clin., 61: 69–90.
24. Бурій ВВ, Пламарчук ВВ. Обґрунтування застосування нових форм піримідинових антиметаболітів в комплексному лікуванні онкоотоларингологічних хворих. Журнал вушних, носових і горлових хвороб. 2007; 5: 68-72.
25. Бюраніков КВ, Жуков ВІ, Перепадя СВ, Вінник ЮО, Зайцева ОВ, Кнігавко ВГ, Моїсеєнко АС. Спряженість метаболічної активності мікробіоценогу кишечника, його бар'єрної функції та рівня ендогенної інтоксикації у хворих на колоректальний рак. Експериментальна і клінічна медицина. 2012; 2(55): 58-6
26. Величковский БТ. Свободнорадикальное окисление как звено срочной и долговременной адаптации организма к факторам окружающей среды. . Вестник РАМН. 2011; 6: 45–52.
27. Влізло ВВ., Федорук РС, Ратич ІБ. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник. Львів: СПОЛОМ, 2012; 764
28. Волкова АВ, Федосов АІ, Кисличенко ВС. Дослідження структури українського ринку лікарських засобів для лікування захворювань гепатобіліарної системи. Фармацевтичний часопис. 2015; 2: 72—75.
29. Вузнецова Г. М.. Протипухлинна активність похідного дигідропіролу на моделі раку товстої кишки щурів, індукованого диметилгідразином. Біологічні Студії / Studia Biologica. 2013; 7(1): 31–40.
30. Гарманчук Л.В., Сенчило Н.В., Нікуліна В.В. та ін. Цитотоксичний вплив на пухлинні клітини *in vitro* агентів з протипухлинним та

антиметастатичним ефектом. *Фізика живого*, 2011; 19(2): 51–53.

31. Гончар О.О., Маньковська І.М. Тіол-дисульфідна система мітохондрій за гострої гіпоксії та гіпоксично-гіпероксичної адаптації. *Укр. Biochem. J.*, 2014, Vol. 86, N 1. С.93-100.

32. Гордієнко А. Д. Експериментальне обґрунтування створення нових гепатопротекторів на основі есенціальних фосфоліпідів та поліфенолів: автореф. дис. д-ра фармац. наук: 14.03.05 / НФаУ. Харків, 2006.33 с.

33. Городецкий В.М. Осложнения противоопухолевой терапии. *Гематология и трансфузиология*. 1998; 1: 11–15.

34. Грицишин ЛЄ, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Стан антиоксидантної системи у щурів за умов диметилгідразин-індукованого канцерогенезу та застосування цитостатичної терапії. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. 2019; 3: 30–36.

35. Грицишин ЛЄ, Фіра ЛС, Лихацький ПГ. Активність цитолітичних процесів у щурів за умов хронічної неопластичної інтоксикації після застосування цитостатиків. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2019; 2: 105–111.

36. Грицишин ЛЄ, Фіра ЛС, Лихацький П Г. Окиснювальний стрес та ендогенна інтоксикація в щурів за умов експериментального канцерогенезу та після застосування цитостатиків. *Вісник проблем біології та медицини*. 2020; 1(155): 112–116.

37. Грицишин ЛЄ. Дослідження маркерів цитолізу в щурів з неопластичною інтоксикацією. *Матеріали XXIII Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених, 15-17 квітня 2019 р. Тернопіль. Укрмедкнига; 2019, с. 290–291.*

38. Грицишин ЛЄ. Ефективність глутаргіну в умовах експериментального канцерогенезу після застосування цитостатиків. *Матеріали XIV Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених, 13-15 квітня 2020 р. Тернопіль. Укрмедкнига; 2020, с. 210–211.*

39. Грицишин ЛЄ, Фіра ЛС. Показники ендогенної інтоксикації у щурів за колоректального раку після застосування гепатопротектора глутаргіну на тлі

цитостатичної терапії. Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів: матеріали VIII наук.-практ. конф. з міжнар. Участю, 23-24 вересня 2020 р. Тернопіль. ТНМУ; 2020, с. 274.

40. Грицишин ЛЄ, Фіра ЛС. Ендогенна інтоксикація в організмі щурів за умов ДМГ-індукованого канцерогенезу після застосування цитостатиків. Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії : матеріали наук.-практ. дистанційної конф. з міжнар. Участю, 02 жовтня 2020 р. Харків. НФаУ; 2020; 10.

41. Грицишин ЛЄ, Фіра ЛС. Дослідження цитокінового профілю у щурів з індукованим колоректальним раком після застосування цитостатичної терапії. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм : матеріали XII Всеукраїнської наук.-практ. конф., присв. Ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМУ 110-річчю проф. Бергера Е. Н. і 90-річчю проф. Маркової О. О., Галицькі читання II, 29-30 жовтня 2020 р. Тернопіль. ТНМУ; 2020, с. 33.

42. Громашевская Л. Л. Метаболическая интоксикация в патогенезе и диагностике патологических процессов / Л. Л. Громашевская // Лабораторная диагностика. – 2006. – № 1 (35). – С. 3–13.

43. Громовая ВФ, Шаповал ГС, Миронюк ИЕ и др. Антиоксидантные свойства лекарственных растений. Химико-фармацевтический журнал. 2008; 42 (3): 26–29

44. Гудивок ЯС, Шеремета ЛМ, Аравіцька МГ та ін. Антицитолітична та антихолестатична ефективність препаратів із гепатопротекторною дією в умовах експериментальних токсичних гепатитів. Фармацевтичний часопис. 2014; 3: 89–91.

45. Гудивок ЯС, Шеремета ЛМ, Аравіцька МГ, Кукурудз НІ. Вплив препаратів із гепатопротекторною дією на процеси обміну речовин в умовах експериментальних токсичних гепатитів. Фармацевтичний часопис. 2014; 4: 118–121.

46. Гуніна ЛМ, Олійник СА. Оксидативний стрес і його роль в канцерогенез. Фізіологічний журнал. 2006; 52 (4): 78–88.

47. Демків І. Я., Н. Є. Лісничук, Ю. В. Сорока, О. В. Чихира. Окисно-відновна рівновага в селезінці білих щурів за умов індукованого канцерогенезу. Медична та клінічна хімія. 2016. Т. 18. № 3. С.38-42.
48. Дерягина ВП, Рыжова НИ, Разин АН. Экспериментальное изучение действия *Lentinus Edodes* (Шиитаке) на рост опухоли у мышей на моделях трансплантационного и химического канцерогенеза. Российский онкологический журнал. 2009; 1: 33–38.
49. Димант ИИ, Шарипов РК, Муратходжаев НК и др. Окислительные процессы и опухолевый рост. Ташкент: Изд.-полиграф. объединение им. Ибн. Сины. 2012; 155 с.
50. Доброва НВ. Применение кселоды в лечении пациентов с метастатическим колоректальным раком. Онкология. 2011; 1: 41-45.
51. Долгих ВТ. Опухолевый рост. М.: Медицинская книга. 2001; 79 с.
52. Долгих ВТ. Основы иммунопатологии: учебное пособие. Ростов на Д.: Феникс. 2007; 320 с.
53. Дроговоз СМ, Губський ЮІ, Скакун МП, Коваленко ВМ, Деримедвідь ЛВ. Експериментальне вивчення жовчогінної, холелітіазної та гепатопротекторної активності нових лікарських засобів (методичні рекомендації). Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації. За ред. чл-кор. АМН України Стефанова О.В. Київ. 2001; 334–351.
54. Дубинина Е. Е. Окислительный стресс и окислительная модификация белков. Med. chemistry. 2001; 2: 5-12.
55. Дубініна Г.Г. Антипроліферативна дія нових похідних 1-(4-R-бензил)-3-R1-4-(R2-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діону / Г.Г. Дубініна, С.М. Головач, В.О. Козловський та ін. // Журн. орган, та фармацевт, хімії. — 2007. — Т. 5, № 1. — С. 39–49.
56. Дубініна ЄЄ, Пустигіна АВ. Окиснювальна модифікація протеїнів, їх роль при патологічних станах. Український біохімічний журнал. 2008; 80(6): 5-18.
57. Дух ОІ, Вовк СО. Активність каталази та супероксиддисмутази і рівень

церулоплазміну в печінці курей та їх ембріонів залежно від рівня вітаміну А в раціоні. Науковий вісник ЛНУВМБТ ім. С. З. Гжицького. 2010; 2(44): 86-91.

58. Евстропова ИВ. В лимфоциты: физиология, функции, популяционная гетерогенность. Иммунология. 2004;1: 46–56.

59. Жуков ВИ, Перепадя СВ, Винник ЮА, Зайцева ОВ, Моисеенко АС. Оксидантно-антиоксидантні взаємодії та структурно-функціональний стан плазматичних мембран у хворих на рак прямої кишки. Вісник проблем біології і медицини. 2010;1:116-120.

60. Журавльова ЛВ, Кривоносова ОМ. Порівняльна характеристика гепатопротекторних засобів: ключ до раціонального застосування. Сучасна гастроентерологія. 2013; 4: 35—40.

61. Зинь А. Прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз і мембранний транспорт у живих організмах. Вісник Львівського університету. 2012;60:21-39.

62. Иванов СД, Колбасов СЕ, Ямшанов ВА и др. Экспрессная оценка токсикогеномных эффектов несимметричного диметилгидразина. Токсикологический вестник. 2009; (3): 11-18.

63. Іскра РЯ. Стан глутатіонової ланки антиоксидантної системи в різних органах і тканинах щурів за дії наноаквацитрату хрому. Експерим. та клініч. фізіологія і біохімія. 2011;3: 28–33.

64. Канцер-реєстр України. Режим доступу: www.health.gov.ua

65. Карякина ЕВ. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений: (обзор лит.). Клини. лаб. диагностика. 2004; 3: 3–7.

66. Калинина ЕВ, Чернов НН, Новичкова МД. Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов. Успехи биологической химии. 2014;54:299–348.

67. Камышников ВС. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. Москва: МЕД пресс-информ; 2009; 43 с.

68. Канцерогенез. Под редакцией Д.Г. Заридзе. — М.: Медицина, 574 с.

69. Карнабеда ОА, Ткач СМ, Передерій ВГ, Чичула ЮВ. Токсичне ураження печінки у пацієнтів з онкологічною патологією (дігностика лікування).

Клиническая онкология.2013;1(9):125-131.

70. Касапиди ЕЭ, Тусупбекова ММ. Патоморфология печени и надпочечников в эксперименте при воздействии несимметричного диметилгидразина. Морфология. 2008; 133 (2): 60.

71. Качур ОІ, Фіра ЛС. Дослідження запальних процесів у щурів за умов експериментального колоректального раку. Матеріали науково-практичної дистанційної конференції з міжнародною участю. Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії; 2020 жовт. 2; Харків. Харків;2020, с.17.

72. Коваль ТВ, Назарова ОО, Матишевська ОП. Зміна вмісту глутатіону в тимоцитах щурів за індукції апоптозу під впливом H₂O₂ або радіації. Укр. біохім. журн. 2018; 80 (2): 114–119.

73. Кожем'якін Ю. М. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. Київ: Авіцена. 2002; 156 с.

74. Колб ВГ, Камишников ВС. Визначення активності церулоплазміну в крові. Клиническая биохимия. Минск: Беларусь. 1976. 219–220.

75. Комов АВ. Лекарственное лечение первичного рака печени. Москва. 2002; 157.

76. Копытова ТВ, Дмитриева ОН, Химкина ЛН. Окислительная модификация белков и олигопептидов у больных хроническими дерматозами с синдромом эндогенной интоксикации. Фундаментальные исследования. 2009; 6: 25-29.

77. Королюк МА, Иванова ЛИ, Майорова ИГ. Метод определения активности каталазы. Лаб. дело. 1988; 1: 16-19

78. Кулинский В.И. Система глутатиона 1. Синтез, транспорт глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы / В.И. Кулинский, Л.С. Колесниченко // Биомед. химия, 2009. – 55, №. 3. – С. 255–277.

79. Кулинский ВИ, Колесниченко ЛС. Система глутатиона 1. Синтез, транспорт глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы. Биомед. химия. 2009; 55 (3): 255–277.

80. Курпешев ОК, Осинский СП, Флоровская НЮ, Силантьева НК, Лебедева ТВ. Продолжительность жизни больных с метастазами

колоректального рака в печени после неполных курсов химиотерапии или симптоматического лечения. Онкология. 2013; 15 (4): 301-306.

81. Лавришин ЮЮ, Вархоляк ІС, Мартишук ТВ, Гута ЗА, Іванків ЛБ та ін. Біологічне значення системи антиоксидантного захисту організму тварин. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Ґжицького. Серія: Ветеринарні науки., 2016; 18(2): 100-111.

82. Левин ГЯ, Егорихина МН. Роль перекисного окислення ліпидов в агрегации клеток крови при ожоговой болезни. Клиническая лабораторная диагностика. 2008; 8: 43-44.

83. Леус ІВ, Шамелашвілі КЛ, Скорик ОД. Антиоксидантна і протипухлинна активність та механізм дії дикарбоксилатів диренію у тварин із карциномою Герена. Укр. біохім. журнал. 2012; (84): 87–96.

84. Линчак ОВ, Рибальченко ВК, Карпезо НО, Островська ГВ. Гепатотоксичність 1,2-диметилгідразину при моделюванні колоректального раку у щурів. Сучасні проблеми токсикології. 2012; 1 (2): 29-34.

85. Луццак ВІ, Багнюкова ТВ, Луццак ОВ. Показники оксидативного стресу. Тіобарбітурактивні продукти і карбонільні групи білків. Укр. біохім. журнал. 2004; 26: 136-141.

86. Луццак ВІ, Багнюкова ТВ, Лужна ЛІ. Показники оксидативного стресу. 2. Пероксиди ліпідів. Укр. біохім. журн. 2006; 78 (5): 113 – 119.

87. Майер К.П. (2004) Гепатит и последствия гепатита: практическое руководство. Москва, 720 с.

88. Малахова МЯ. Эндогенная интоксикация как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме. Эфферентная терапия. 2000; 6 (4): 3–14.

89. Меньщикова ЕБ, Зенков НК. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов. Успехи совр. биологии. 2013; 113: 442–455.

90. Меньщикова ЕБ, Ланкин ВЗ, Зенков НК, Бондарь ІА, Круговых НФ, Труфакин ВА. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. Монография. М.: Слово, 2006;556

91. Мжельская ТИ. Биологические функции церулоплазмينا и их дефицит при мутациях генов, регулирующих обмен меди и железа. Бюлетень експериментальной биологии и медицины. 2000; 130 (8): 124–133.
92. Муравьева ЛЕ. Окислительная модификация белков: проблемы и перспективы исследования. Фундаментальные исследования. 2010; 1: 74–78.
93. Доброва Н.В. Применение кселоде в лечении пациентов с метастатическим колоректальным раком. Онкология. 2011; 13 (1): 41-45.
94. Николайчик ВВ, Кирковский ВВ, Маин ВМ. «Средние молекулы» – образование и способы определения. Лаб. дело. 1989; 8: 31-33.
95. Никольская ВА, Данильченко ЮД, Меметова ЗН. Биохимический аспект рассмотрения роли молекул средней массы в организме в организме. Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского Сер.: Биология, химия. 2013; 1(65): 139–145.
96. Островська, В. Г. Рибальченко. Стан антиоксидантної системи печінки та вміст матричної металопротеїнази-2 товстого кишечника у разі дії похідного малеїміду за експериментального колоректального канцерогенезу щурів. Укр. біохім. журн., 2010, т. 82, № 4. – С. 69-77.
97. Овсяннікова ЛМ. Методи оцінки вільнорадикального окиснення та стану антиоксидантної системи організму у клінічній практиці. К.: Вища школа, 2007: 24.
98. Паламарчук ВВ. Обґрунтування застосування нових форм піримідинових антиметаболітів у комплексному лікуванні онкоотоларингологічних хворих. Журнал вушних, носових і горлових хвороб. 2007; 5: 68–72.
99. Паніна ЛВ, Терлецька ОІ, Ковальчук СМ. Оцінка ендогенної інтоксикації організму за умов експериментальної гемічної гіпоксії. Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2008; 2: 72–76.
100. Переводчикова НИ. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний – 2-е изд., доп. – М. Практ. Мед. 2005: 690.
101. Перетягин СП, Костина ОВ. Состояние тромбоцитарного звена системы гемостаза, прооксидантного и антиоксидантного потенциалов в

динамике ожоговой болезни. Клиническая лабораторная диагностика. 2011; (4): 33-35.

102. Плисс ГБ. Влияние вилона на неопластические процессы, индуцированные 1,2-диметилгидразином. Вопросы онкологии. 2005; 51 (4): 466–469.

103. Поготова ГА, Горчакова НО, Беленічев ІФ, Чекман ІС. Гепатотропні засоби: органопротекторна дія (огляд літератури). Вісник проблем біології і медицини. 2015; 1 (117): 19–26.

104. Поступаленко АВ, Зайвелева ЮІ, Зотов ОС. Система глутатіону — перспективна мішень для підвищення чутливості до хіміотерапевтичних препаратів (огляд літератури) Практична онкологія. 2019;2(2):16-21.

105. Путилина ФЕ. Свободнорадикальное окисление. Учебное пособие.— СПб.: Издательство СПб. университета, 2008; 161 с.

106. Резніков ОГ. Про- та антиоксидантна системи і патологічні процеси в організмі людини. Вісник НАН України. 2014; (10): 17-28.

107. Ройт А, Бростофф Дж. Иммунология (перевод с английского) М.: Мир, 2010; 582 с.

108. Рыболовлев ЮР, Рыболовлев РС. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности. Доклады АН СССР. 1979; 247 (6): 1513–1516.

109. Correction of oxidant-antioxidant homeostasis in rats with Gen carcinoma in radiotherapy / Уа.В.Раєтска, U. N. Belokon, V. A. Varaboy, L. I. Ostarchenko // Фізика живого. – 2013. – 11, № 1. – С. 89–94.

110. Сепиашвили РИ. Основы физиологии иммунной системы. М.: Медицина, 2003; 239 с.

111. Скрипник І.М. Комплексна оцінка впливу Глутаргіну на функціональний стан печінки у хворих на хронічний токсичний гепатит алкогільної етіології /І.М. Скрипник, Г.В. Невоїт, І.І. Дегтярьова // Здоров'я України, 2004.– № 22(107).– С.50.

112. Сорока Ю. В. Метаболические нарушения при хронической неопластической интоксикации и применении цитостатической терапии.

Медицина и образование в Сибири. 2013; (2): 16–19.

113. Сорока ЮВ, Ковальчук ЮО, Олещук ОМ. Фактори розвитку оксидативного стресу за умов індукованого канцерогенезу та їх сорбційна корекція. Здобутки клінічної та експериментальної медицини. 2013;2:176-180.

114. Соснина АВ, Великая НВ, Аутеншлюс АИ. Роль цитокинов в патогенезе злокачественных новообразований. Новосибирск: Вектор-Бест. 2013.80 с.

115. Тогайбаев АА, Кургузкин АВ, Рикун ИВ. Способ диагностики эндогенной интоксикации. Лаб. дело. 1988; (9): 22–24.

116. Трякин АА. Лекарственное лечение метастатического колоректального рака. Практическая онкология. 2005; 6 (2): 112 –118.

117. Турусов ВС, Томатис Л. Трансплацентарный и трансгенерационный канцерогенез. Архив патологии. 2007; 59(5): 7-12.

118. Федоренко З.П., Михайлович Ю.Й., Гулак Л.О. та ін. (2017) Рак в Україні, 2015–2016. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. Бюл. Нац. канцер-реєстру України. Київ, 18: 130.

119. Чевари С, Чаба И, Секей И. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах. Лаб. дело. 1985; 11: 678-681.

120. Чекман ИС, Беленичев ИФ, Горчакова НА. та ін. Антиоксиданты: клиничко-фармакологічний аспект. Український медичний часопис. 2014; 1 (99): 22–28.

121. Черенков ВГ. Клиническая онкология. М.: МК. 2010; 434 с.

122. Шаповал Г. С. Механизмы антиоксидантной защиты организма при действии активних форм кислорода / Г. С. Шаповал, В. Ф. Громова // Український біохімічний журнал. – 2003. – Т. 75, №2. – С. 5-11.

123. Шеламова МА, Инсарова НИ, Лещенко ВГ. Статистический анализ медико-биологических данных с использованием программы EXCEL. Минск: БГМУ. 2010; 96 с.

124. Сорока Ю. В.. Метаболические нарушения при хронической неопластической интоксикации и применении цитостатической терапии.

Медицина и образование в Сибири. -2013. -№2.- С.16-19/

125. Abbas AK, Lichtman AK. Basic Immunology: Functions and disorders of the immune system. 3rd ed. Philadelphia, PA.: Saunders Elsevier. 2009. – 312 p.

126. Adachi A, Uchiyama T, Uchisako H. A case of complete response treated by gastrectomy with lymphadenectomy and combined chemotherapy of peroral S-1 and CDDP by arterial infusion for gastric cancer with multiple liver metastasis. *Gan To Kagaku Ryoho*. 2008; 35 (3): 503-506.

127. American Cancer Society. Colorectal Cancer Facts and Figures 2014-2016. Atlanta: American Cancer Society. 2014.

128. Anderson C, Majeste A, Hanus J, Wang S. E-Cigarette Aerosol Exposure Induces Reactive Oxygen Species, DNA Damage, and Cell Death in Vascular Endothelial Cells. *Toxicological Sciences*. 2016 Dec;154(2):332–340.

129. Aoyagi K, Koufuji K, Yano S. Gastric cancer with liver metastasis effectively treated by intra-hepatic arterial infusion. *Gan To Kagaku Ryoho*. 2004; 31 (11):1678-1681.

130. Arias JL. Drug targeting strategies in cancer treatment: an overview. *Mini Rev. Med. Chem*; 2011, 11 (1): 1—17.

131. Armstrong D. Oxidative Stress Biomarkers and Antioxidant Protocols / Armstrong D. – Totowa, New Jersey: Humana Press Inc., 2002. – 186 p.

132. Baraboy V. A. Bioantioxidants. Kiev: Kniga plyus, 2006. 462 p.

133. Barelli S, Canellini G, Thadikkaran L, Crettaz D, Quadroni M, Rossier JS, et.al. Oxidation of proteins: Basic principles and perspectives for blood proteomics. *Proteomics Clin. Appl*. 2008 Nov;2:142–157.

134. Beauchemin N. Metastasis of colorectal cancer / N. Beauchemin, J. Huot — New York: Springer, 2010. — 416 p.

135. Beger RA. Review of Applications of Metabolomics in Cancer. *Metabolites*. -2013; 3 (3): 552-574.

136. Bendardaf R, Lamlum H, Pyrhonen S. Prognostic and predictive molecular markers in colorectal carcinoma. *Anticancer Res*. 2004; 4 (24); 2519–2530.

137. Bhagat S, Ghone R, Suryakar A, Hundekar P. Lipid peroxidation and

antioxidant vitamin status in colorectal cancer patients. *Indian J Physiol Pharmacol.* 2011; 55 (1): 72–76.

138. Blume-Jensen P., Hunter T. Oncogenic kinase signalling *Nature.* 2001 May 17;411(6835):355-65.

139. Burlaka A. P., Sidorik E. P. Radical oxygen and nitric oxide species in neoplastic process. Kiev: Naukova Dumka, 2006. 228 p.

140. Cai Z, Yan Liang-Jun. Protein Oxidative Modifications: Beneficial Roles in Disease and Health. *J. Biochem. Pharmacol. Res.* 2013 Mar;1(1):15–26.

141. Cannata D, Fierz Y, Vijayakumar A, Le D. Roith Type 2 diabetes and cancer: what is the connection? *Mt. Sinai J. Med.* 2010; 77(2): 197—213.

142. Cantor J, Sabatini D. Cancer Cell Metabolism: One Hallmark, Many Faces. *Cancer Discov.* 2012; 2 (10): 881–898.

143. Chen Z, Li R, Xie Z, Huang G, Yuan Q, Zeng J. IL-6, IL-10 and IL-13 are associated with pathogenesis in children with Enterovirus 71 infection. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2014 Sep; 7 (9): 2718-2723.

144. Chesnokova, N. P., Ponukalya, E. V., Byzenkova, M. N. (2016). Molecular-cellular mechanisms of induction of free radical oxidation in pathological conditions. *Modern Problems of Science and Education.* 2016; 6: 21–26.

145. Cuiping L, Chen C, Fuguo Y, et al.: Phytic acid improves intestinal mucosal barrier damage and reduces serum levels of proinflammatory cytokines in a 1,2-dimethylhydrazine-induced rat colorectal cancer model. *Br J Nutr.* 2018;120:121-130.

146. Dalle-Donne I., Rossi R., Giustarini D. et al. S-glutathionylation in protein redox regulation. *Free Rad. Biol. Med.* – 2007. – 43. – P. 883–898.

147. Dilip A., Ranawat MS, Khinchi-Mahaveer P, Gupta MK, Sharma N., Gunjan A. Diagnosis and treatment of colorectal cancer: a review. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics;* 2012, 2(3): 60-66.

148. Exadaktylos P., Reiss T., Schobess R. et al. (1994) Acute hepatotoxicity with intermediate-dose methotrexate in children with leukemia and non-Hodgkin's lymphoma. *Klin. Padiatr.*, 206(4): 315–18.

149. Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S., Coebergh

JW, Comber H, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer*. 2013; 49 (6): 1374–403.

150. Ferlay J., Hai-Rim S., Bray F. et al. (2010) Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int. J. Cancer*, 127(12): 2893–2917.

151. Filinska O, Yablonska S, Mandryk S, Kharchuk IV, Ostrovska GV, Rybalchenko VK. Effect of maleimide derivative on oxidative stress and glutathione antioxidant system in 1,2-dimethylhydrazine induced colon carcinogenesis in rat. *Ann. Univ. Mariae Curie-Sklodowska*. 2010; (3): 191–195.

152. Finkel T. Signal transduction by mitochondrial oxidants. *J. Biol Chem*. 2012; 287(7): 4434-4440.

153. Finkel T. Signal transduction by reactive oxygen species. *J Cell Biol*. 2011 Jul;1(194):7–15.

154. Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu. Rev. Biochem*. 1995; 64: 97-112.

155. Gaber W, Azkalany GS, Gheita TA, et al. Clinical significance of serum interleukin-6 and -174 G/C promoter polymorphism in Rheumatoid arthritis patients. *Egypt Rheumatol*. 2013 Apr;35(2):107-113.

156. Gaude E., Frezza C. Defects in mitochondrial metabolism and cancer. *Cancer Metab*. 2014; 2: 2-10.

157. Gentric G, Maillet V, Paradis V, Couton D, L'Hermitte A, Panasyuk G, et al. Oxidative stress promotes pathologic polyploidization in nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin. Invest*. 2015 Mar;125(3):981-992.

158. Geoghegan JG, Scheele J. Treatment of colorectal liver metastases: Review. *Brit. J. Surg*. 1999; 86: 158 – 159.

159. Godos J, Biondi A, Galvano F, Basile F, Sciacca S, Giovannucci EL, Grosso G. Markers of systemic inflammation and colorectal adenoma risk: Meta-analysis of observational studies. *World J Gastroenterol*. 2017;23(10):1909-191

160. Gozuacik D, Kimchi A. Autophagy as a cell death and tumor suppressor mechanism. *Oncogene*. 2004; 23: 2891–2906.

161. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M: Immunity, inflammation, and cancer. *Cell*. 2010;140:883–899.

162. Gross D, Tolba R. Ethics in Animal-Based Research. *Eur. Surg. Res.* 2015; 55(1-2): 43 – 57.
163. Gryfe R., Swallow C., Bapat B. et al. Molecular biology of colorectal cancer. *Curr. Probl. Cancer.* 1997; 21 (5): 233–300.
164. Grytcyshyn L., Fira L., Lykhatskyi P. Application of Glutargin hepatoprotector to remove side action of cytostatics under experimental carcinogenesis / *Sciences of Europe № 48, (2020).* – 27-32.
165. Grytcishin LE, Fira LS, Lykhatskyi PH, Fira DB. Development of the inflammatory process and endogenic intoxication in colorectal cancer after the application of cytostatics and hepatoprotectors. *Journal of Education, Health and Sport.* 2020; 10 (10): 381–392.
166. Gür T, Demir H, Cetin Kotan M. Tumor Markers and Biochemical Parameters in Colon Cancer Patients Before and After Chemotherapy. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention.* 2011; 12: 3147–3150.
167. Gutteridge JMC. Free radicals in disease processes: a comparison of cause and consequence. *Free Radic. Res. Commun.* 2013; (19): 141–158.
168. Hait WN, Jin S, Yang J-M. A matter of life or death (or both): understanding autophagy in cancer. *Clin. Cancer Res.* 2006; 12: 1961–1965.
169. Hamanaka R., Chandel S. Mitochondrial reactive oxygen species regulate cellular signalling and dictate biological outcomes. *Trends Biochem. Sci.* 2010; 35(9): 505-513.
170. Hamiza OO, Rehman MU, Tahir M, Khan R, Khan AQ, Lateef A, Ali F, Sultana S. Amelioration of 1,2 Dimethylhydrazine (DMH) Induced Colon Oxidative Stress, Inflammation and Tumor Promotion Response by Tannic Acid in Wistar Rats. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention.* 2012; 13: 4393-4402.
171. Hiratsuka M. Management of patients with hepatic metastases from gastric carcinoma. *Nippon Geka Gakkai Zasshi.* 2003; 104 (10): 711-716.
172. Hoebe K.H., Witkamp R.F., Fink-Gremmels J. et al. (2001) Direct cell-to-cell contact between Kupfer cells and hepatocytes augments endotoxin-induced hepatic injury. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 280(4): G720–728.
173. Huang XJ, Choi YK, Im HS, Yurimaga O, Yoon E, Kim HS.

AspartateAminotransferase (AST/GOT) and AlanineAminotransferase (ALT/GPT) Detection Techniques. *Sensors* (Basel). 2006 Jul; 6(7): 756–782.

174. IARC (2012) Scientific Publication, №116: Mechanisms of carcinogenesis in risk identification. Lyon, IARCPress. Franks L.M., Teich N.M. (eds.). Cellular and molecular biology of cancer. Third Edition. Oxford University Press. Oxford, N.Y., Tokyo, 2007; 1: 458.

175. IARC (2017) Suppl., №7: Overall evaluation of carcinogenicity: an updating of IARC Monographs. Lyon, IARCPress. Sirica A.E. (ed.). The pathobiology of neoplasia. Plenum Press. N.Y., London. 2009; 1: 583.

176. Imamura M, Yamaki T, Yasuda M. A case of advanced gastric cancer with multiple liver metastases responding completely to hepatic arterial infusion and systemic chemotherapies. *Gan To Kagaku Ryoho*. 2003; 30 (13): 2101-2105.

177. Jakopitsch, Ch., Vlasits, J., Wiseman, B., Loewen, P. C., Obinger, C.. Redox Intermediates in the Catalase Cycle of Catalase-Peroxidases from *Synechocystis* PCC 6803, *Burkholderia pseudomallei*, and *Mycobacterium tuberculosis*. *Biochemistry*2.. 2017; 46 (5), 1183–1193.

178. Jambunathan N. Determination and detection of reactive oxygen species (ROS), lipid peroxidation, and electrolyte. *Methods Mol Biol*. 2010;639:292-8.

179. Jannot A S, Agoritsas T, Gayet-Ageron A, Perneger TV. Citationbiasfavoring statistically significant studies was presentin medical research. *J Clin Epidemiol*. 2013 Mar; 66 (3): 296.

180. Jansen P.L., Van der Lelie H. (1994) Intrahepatic cholestasis and biliary cirrhosis associated with extrahepatic Hodgkin's disease. *Neth. J. Med.*, 44(3): 99–102.

181. Jensen L, Culotta V. Activation of CuZn Superoxide Dismutases from *Caenorhabditis elegans* does not require the copper chaperone CCS. *J. Biol. Chem*. 2015; 280: 41373–41379.

182. Jeschke MG, Chinkes DL, Finnerty CC. Pathophysiologic response to severe burn injury. *Ann Surg*. 2018; 248 (3): 387-99.

183. Jezek P., Hlavata L. Mitochondria in homeostasis of reactive oxygen species in cell, tissues, and organism. *Int. J. Biochem. Cell Biol*. 2005; 37(12): 2478-

2503.

184. Jian-Guo Wang, Dong-Fei Wang, Bing-Jian Lv, Jian-Min Si. A novel mouse model for colitis-associated colon carcinogenesis induced by 1, 2-dimethylhydrazine and dextran sulfate sodium. *World J Gastroenterol.* 2004; 10 (20). – P. 2958–2962.

185. Johnson P, Boldyrev A. Oxidative stress: molecular, cellular and organ levels. Trivandrum (India): Research Singpost Publ. 2002; 142 p.

186. Kim MJ, Han SW, Lee DW. Splenomegaly and Its Associations with Genetic Polymorphisms and Treatment Outcome in Colorectal Cancer Patients Treated with Adjuvant FOLFOX. *Cancer Res Treat.* 2016;48 (3); 990–997.

187. Kobaek Larsen M, Fenger C, Hansen K. et al. Comparative study of histopathologic characterization of azoxymethane induced colon tumours in three inbred rat strains. *Comp Med.* 2010; 52 (1): 50 – 57.

188. Laidlaw S.T., Reilly J.T., Suarna S.K. (1995) Fatal hepatotoxicity associated with 6-mercaptopurine therapy. *Postgrad Med. J.*, 71(849): 639.

189. Laran T, Culotta J, Culotta V. Activation of Cu, Zn superoxide dismutases from *Caenorhabditis elegans* does not require the copper chaperone CCS. *J. Biol. Chem.* 2015; 280: 41373–41379.

190. Lasmezas CI. Putative functions of PrPc. *British Medical Bulletin.* 2013; 66: 61–70.

191. Levis J.H., Schiff E. (1998) Methotrexat-induced chronic liver injury: guidelines for detection and prevention. *Am. J. Gastroenterol.*, 83: 1337.

192. Lo RV, Haynes K, Forde KA, Goldberg DS, Lewis JD, Carbonari DM, Leidl KB, et.al. Risk of Acute Liver Failure in Patients With Drug-Induced Liver Injury: Evaluation of Hy's Law and a New Prognostic Model. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2015 Dec;13(13):2360-8.

193. Lu YF, Zeng J, Liao QH. Comparative study on clinical effect of postoperative arterial infusion chemotherapy and systemic chemotherapy in gastric cancer. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi.* 2006; 9 (4): P. 317-319.

194. Lushchak V I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *aquat. Toxicol.* 2011; 101(1): 13-30.

195. Lushchak V I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *chem. Biol. Interact.* 2014; 224C: 164-175.
196. Lushchak V I. Glutathione homeostasis and functions: potential targets for medical interventions. *J. amino acids.* 2012; 2012: 736-837.
197. Lushchak V. I. Adaptive response to oxidative stress: Bacteria, fungi, plants and animals. *comp. Biochem. Physiol. c. Toxicol. Pharmacol.* 2011; 153(2): 175-190.
198. Lynchak O, Ostrovska G, Rybalchenko V. Effects of new maleimide derivate on the 1,2-dimethylhydrazineinduced colon carcinogenesis in rats. *Gut GASTRO 2009 UEGW/WCOG, London.* 2009; 58 (Supl. II): 334.
199. Максимова І. The Process of Protein Oxidative Modification and Lipid Peroxidation Activity in Rats under Prolonged Imidazoline Mixture Action. *Галицький лікарський вісник.* 2015;22(3):20-22.
200. Mandal P. Potential biomarkers associated with oxidative stress for risk assessment of colorectal cancer. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2017;390(6):557-565.
201. Masuzawa T, Fujiwara Y, Takiguchi S. A long-term survival case of gastric cancer with liver metastases treated by hepatic arterial infusion chemotherapy. *Gan To Kagaku Ryoho.* 2008; 35 (12): 2002-2004.
202. Mrakic-Sposta S, Gussoni M, Montorsi M, Porcelli S, Vezzoli A. Assessment of a standardized ROS production profile in humans by electron paramagnetic resonance. *Oxid Med Cell Longev.* 2012;2012:973927.
203. Murphy M. P. How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochem J.* 2009; 417(1): 1-13.
204. Murray C.J.L. (2015) Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*, 385: 117–171.
205. Nam J, Park K, Park E, Lee YB, Lee HG, Baik HH, et al. Interleukin-13/4-induced oxidative stress contributes to death of hippocampal neurons in $\alpha\beta 1$ -42-treated hippocampus in vivo. *Antioxid Redox Signal.* 2012 Jun;16(12):1369-83.
206. Narahara H, Tatsuta M, Lishi H et. all. Kuras point mutation is

associated with enhancement by deoxycholic acid of colon carcinogenesis induced by azoxymethane, but not with its attenuation by all transceretionic acid. *Int J Cancer*. 2010; 15 (1): 157 – 161.

207. Nemoto T., Kubota S., Ishida H. et al. Ornithine decarboxylase, mitogen-activated protein kinase and matrix metalloproteinase-2 expressions in human colon tumors. *Gastroenterol.* – 2005. – 11, N 20. – P. 3065–3069.

208. Nikishaev VI, Patiy AR, Tumak IN, Kolyada IA Endoscopic diagnostics of early colorectal cancer. *Ukr J Min Invasive and Endoscopic Surgery*. 2012; 16: 35-55.

209. Jian-Guo Nowakowska-Zajdel E. et al. Metabolic Abnormalities in Colorectal Cancer Patients. *J Endocrinol Metab*. 2012; 2 (3): 135-138.

210. Okeh U. Statistical problems in medical research. *East. Afr. J. Public. Health*. 2009; 6(1): 1–7.

211. Onose J, Imai T, Hasumura M. Rapid induction of colorectal tumours in rats initiated with 1,2-dimethylhydrazine followed by dextran sodium sulfate treatment. *Cancer Letters*. 2003; 198 (2): 145–152.

212. Ozer J, Ratner M, Shaw M, Bailey W, Schomaker S. The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. *Toxicology*. 2008 Mar;245(3), 194-205.

213. Papamichael D., Audisio R.A., Glimelius B. et al. (2014) Treatment of colorectal cancer in older patients: International Society of Geriatric Oncology (SIOG) consensus recommendations 2013. *Ann. Oncol.*, 26: 463–476.

214. Parihar A, Parihar MS, Milner S, Bhat S. Oxidative stress and anti-oxidative mobilization in burn injury. *Burns*. 2008; 34 (1): 6-17.

215. Perse M, Zebic A, Cerar A. Rofecoxib does not inhibit aberrant crypt foci formation but inhibits later steps in the development of experimental colorectal cancer. Rofecoxib in experimental colon cancer. *Scan J Gastroenterol*. 2005; 40 (3): 61–67.

216. Perse M, Cerar A. The dimethylhydrazine induced colorectal tumours in rat –experimental colorectal carcinogenesis. *Radiol Oncol*. 2005; 39 (1): 61–70.

217. Pineiro-Carrero V. M., Pineiro E. O. Liver. *Pediatrics*. – 2004. – 113, N 4. – P. 1097–1106.

218. Plichta Z, Kozak Y, Panchuk R, Sokolova V, Epple M, Kobylinska, L, et al. Cytotoxicity of doxorubicin-conjugated poly[N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide]-modified γ -Fe₂O₃ nanoparticles towards human tumor cells. *Beilstein Journal of Nanotechnology*. 2018;9:2533-2545.
219. Ray PD, Huang BW, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular Signalling* 2012 May;24(5):981–990.
220. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radic Biol Med*. 2010; 49 (11): 1603–1616.
221. Ribou AC. Synthetic Sensors for Reactive Oxygen Species Detection and Quantification: A Critical Review of Current Methods. *Antioxid Redox Signal*. 2016 Sep;25(9):520-33.
222. Rotilio G, Aquilano K, Ciriolo M. Interplay of Cu, Zn superoxide dismutase and nitric oxide synthase in neurodegenerative processes. *Life*. 2008;55: 629–634.
223. Rukmini, M. S., D'Souza, B., D'So, V. Superoxide dismutase and catalase activities and their correlation with malondialdehyde in schizophrenic patients. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2014; 19 (2), 114–118.
224. Safaee E. et al. Pathology and Prognosis of Colorectal Cancer. *IJCP*. 2009; 2 (3): 137-141.
225. Saffle JR, Sullivan JJ, Tuohig GM. Multiple organ failure in patients with thermal injury. *Crit Care Med*. 1993; 21: 1673–1683.
226. Sánchez-Pérez Y, Carrasco-Legleu C, García-Cuellar C, Pérez-Carreón J. Oxidative stress in carcinogenesis. Correlation between lipid peroxidation and induction of preneoplastic lesions in rat hepatocarcinogenesis. *Cancer Letters*. 2005; 217 (1): 25–32.
227. Sanner T. et al. Potency grading in carcinogen classification. *Molecular carcinogenesis*. 2007; 20: 280-287.
228. Seyfried T, Shelton L. Cancer as a metabolic disease. *Nutrition & Metabolism*. 2010; 7 (7): 1– 22.
229. Sheridan RL, Ryan CM, Yin LM. Death in the burn unit: sterile multiple

organ failure. *Burns*. 2018; 24: 307–311.

230. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer Statistics. *Cancer Journal for Clinicians*. 2013; 63 (1): 11–30.

231. Skrzydlewska E, Sulkowski S, Koda M. Lipid peroxidation and antioxidant status in colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2005; 11 (3): 403–406.

232. Stravska M., I. Andriichuk, Yu. Soroka, T. Stravskyy, Yu. Kukuruza. Redox balance in white rats' spleen in the dynamics of experimentally developed carcinogenesis. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 2018. 90 №3. С.- 139 –145.

233. Song C. S., Rubin W., Rifkind A. B. et al. Isolation and Enzymatic Characterization of a Fraction Rich in Bile Canaliculi. *J. Cell Biol.* – 1969. – 41, N 1. – P. 124–131.

234. Sorokina L. The influence of sodium dichloroacetate on the prooxidative-antioxidative state of Lewis lung carcinoma. *Proc. VIII Intern. Sci. Conf. «Youth and advancement of biology»*. Lviv, 2012. P. 78-79.

235. Tarrant J, Meyer D, Katavolos P. Use of optimized aminotransferase method in regulated preclinical studies. *Vet Clin Pathol*. 2013 Dec; 42 (4): 535-8.

236. Tumour Markers (EGTM) guidelines for clinical use // *European Journal of cancer*. 2007; 43: 1348 -1360.

237. Valko M. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol*. 2007; 39: 44–84.

238. Vasen H.F.A., Tomlinson I., Castells A. (2015) Clinical management of hereditary colorectal cancer syndromes. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 12: 88–97.

239. Veceric Z, Cerar A. Comparison of wistar vs. fischer rat in the incidence of 1,2-dimethylhydrazine induced intestinal tumours. *Radiol Oncol*. 2004; 38 (1): 227–234.

240. Vetrano, AM, Heck, DE, Mariano TM, Mishin V, Laskin DL, Laskin JD. Characterization of the Oxidase Activity in Mammalian Catalase. *The Journal of Biological Chemistry*. 2015; 280 (42): 35372–35381.

241. Viganò L, Ferrero A, Lo Tesoriere R, Capussotti L. Liver surgery for colorectal metastases: results after 10 years of follow-up. Long-term survivors, late

recurrences, and prognostic role of morbidity. *Ann Surg Oncol*. 2008; 15 (9): 2458-64.

242. Wang H., Naghavi M., Allen C. et al. (2016) Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet*, 388(10053): 1459–1544.

243. Wang L, Gloves J, Hepburn M. et al. Glutathione-S-transferase enzyme expression in hema-topoietic cell lines implies a differential protective role for TI, and AI isoenzymes in erythroid and for MI in lymphoid lineages. *Haematologica*. 2000; 85(6): 573–79.

244. Weihua Wu, Shimin Zhao. Metabolic changes in cancer: beyond the Warburg effect. *Acta Biochim Biophys Sin*. 2013; 45 (1): 18-26.

245. Weiss RB, Hellman S, Rosenberg SA. Miscellaneous Toxicities, Chapter 54.8. *Cancer: principles and practice of oncology*, 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2005; 2802 p.

246. Wondrak G. Redox-directed cancer therapeutics: molecular mechanisms and opportunities. *Antioxid. Redox Signal*. 2009;11:3013–3069.

247. Yablonska S. Manifestation of antipro-liferative effects of new kinase inhibitor in respect of normal cell. *Life's molecular interactions*. 34th FEBS congress // the FEBS Journal. Prague, Czech Republic. 2009; 276 (1): 352.

248. Yang M, Soga T, Pollard PJ. Oncometabolites: linking altered metabolism with cancer . *J Clin Invest*. 2013; 123 (9): 3652– 3658.

249. Zhang J, Yang PL, Gray NS. Targeting cancer with small molecule kinase inhibitors. *Nature Review Cancer*. 2009; 9 (11): 28–39.

ДОДАТОК А

СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ ЗДОБУВАЧА

1. Грицишин Л. Є., Фіра Л. С., Лихацький П. Г. Стан антиоксидантної системи у щурів за умов диметилгідразин-індукованого канцерогенезу та застосування цитостатичної терапії. Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. 2019. №3. С. 30–36.
2. Грицишин Л. Є., Фіра Л. С., Лихацький П. Г. Активність цитолітичних процесів у щурів за умов хронічної неопластичної інтоксикації після застосування цитостатиків. Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2019. № 2. С. 105–111.
3. Грицишин Л. Є., Фіра Л. С., Лихацький П. Г. Окиснювальний стрес та ендогенна інтоксикація в щурів за умов експериментального канцерогенезу та після застосування цитостатиків. Вісник проблем біології та медицини. 2020. № 1. (155). С. 112–116.
4. Grytcyshyn L., Fira L., Lykhatskyi P. Application of Glutargin hepatoprotector to remove side action of cytostatics under experimental carcinogenesis. Sciences of Europe. 2020. № 48. P. 27–32.
5. Grytcishin L. E., Fira L. S., Lykhatskyi P. H., Fira D. B. Development of the inflammatory process and endogenic intoxication in colorectal cancer after the application of cytostatics and hepatoprotectors. Journal of Education, Health and Sport. 2020. Vol. 10, № 10. P. 381–392.
6. Грицишин Л. Є. Дослідження маркерів цитолізу в щурів з неопластичною інтоксикацією. Матеріали XXIII Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених, 15-17 квітня 2019 р. Тернопіль : Укрмедкнига, 2019. С. 290–291.
7. Грицишин Л. Є. Ефективність глутаргіну в умовах експериментального канцерогенезу після застосування цитостатиків. Матеріали XIV Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених, 13-15 квітня 2020 р. Тернопіль : Укрмедкнига, 2020. С. 210–211.

8. Грицишин Л. Є., Фіра Л. С. Показники ендогенної інтоксикації у щурів за колоректального раку після застосування гепатопротектора глутаргіну на тлі цитостатичної терапії. Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів : матеріали VIII наук.-практ. конф. з міжнар. Учасю, 23-24 вересня 2020 р. Тернопіль : ТНМУ, 2020. С. 274.

9. Грицишин Л. Є., Фіра Л. С. Ендогенна інтоксикація в організмі щурів за умов ДМГ-індукованого канцерогенезу після застосування цитостатиків. Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії : матеріали наук.-практ. дистанційної конф. з міжнар. Учасю, 02 жовтня 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 10.

10. Грицишин Л. Є., Фіра Л. С. Дослідження цитокинового профілю у щурів з індукованим колоректальним раком після застосування цитостатичної терапії. Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм : матеріали XII Всеукраїнської наук.-практ. конф., присв. Ювілейним датам засновників кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчю проф. Бергера Е. Н. і 90-річчю проф. Маркової О. О., Галицькі читання II, 29-30 жовтня 2020 р. Тернопіль : ТНМУ, 2020. С. 33.

ДОДАТОК Б

Відомості про апробацію результатів дисертації:

- XXIII Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених (м. Тернопіль, 15-17 квітня 2019 р.) *(публікація)*;
- XIV Міжнародний медичному конгресі студентів та молодих вчених (м. Тернопіль, 13-15 квітня 2020 р.) *(публікація)*;
- VIII науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (м. Тернопіль, 23-24 вересня 2020 р.) *(публікація)*;
- науково-практична дистанційна конференція з міжнародною участю «Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії» (м. Харків, 02 жовтня 2020 р.) *(публікація)*;
- XII Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм», присвячена Ювілейним датам заставників кафедри патофізіології ТДМІ 110-річчя Бергера Е.Н. і 90-річчя проф. Маркової О.О. (м. Тернопіль, 29-30 жовтня 2020 р.) *(публікація)*.

ДОДАТОК В.1

Затверджую»
Перший проректор Івано-Франківського
національного медичного університету
професор Г. М. Ерстенюк



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Активність вільнорадикальних процесів в організмі щурів з експериментальним канцерогенезом
2. **Установа, автор:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра медичної біохімії, Грицишин Лілія Євгенівна
3. **Джерело інформації:** Грицишин Л.Є. Окиснювальний стрес та ендогенна інтоксикація в щурів за умов експериментального канцерогенезу та після застосування цитостатиків / Л.Є. Грицишин, Л.С. Фіра, П.Г. Лихацький // Вісник проблем біології та медицини. – 2020. – №1. – С.58-62.
2. Грицишин Л.Є. Стан антиоксидантної системи у щурів за умов диметилгідразин-індукованого канцерогенезу та застосування цитостатичної терапії / Л.Є. Грицишин, Л.С.Фіра, П.Г.Лихацький // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2019. – №3. – С.30-36.
4. **Де впроваджено:** Івано-Франківський національний медичний університет, кафедра біологічної та медичної хімії імені академіка Г.О. Бабенка
5. **Форма впровадження:** науково-навчальний процес кафедри.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів щодо розвитку окиснювального стресу в організмі щурів з хімічно індукованим канцерогенезом
7. **Строки впровадження:** 2020-2021 н.р.

Відповідальний за впровадження:

В.о. завідувача кафедри біологічної
та медичної хімії імені академіка
Г.О. Бабенка, кандидат біологічних наук,
доцент

Т.П. Максимчук

ДОДАТОК В.2

«Затверджую»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Буковинського державного медичного університету

доцент І.В. Геруш

2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Активність вільнорадикальних процесів в організмі щурів з експериментальним канцерогенезом
2. **Установа, автор:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра медичної біохімії, Грицишин Лілія Євгенівна
3. **Джерело інформації:** Грицишин Л.Є. Окиснювальний стрес та ендогенна інтоксикація в щурів за умов експериментального канцерогенезу та після застосування цитостатиків / Л.Є. Грицишин, Л.С. Фіра, П.Г. Лихацький // Вісник проблем біології та медицини. – 2020. – №1. – С.58-62.
2. Грицишин Л.Є. Стан антиоксидантної системи у щурів за умов диметилгідразин-індукованого канцерогенезу та застосування цитостатичної терапії / Л.Є. Грицишин, Л.С.Фіра, П.Г.Лихацький // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2019. – №3. – С.30-36.
4. **Де впроваджено:** Буковинський державний медичний університет, кафедра біоорганічної і біологічної хімії та клінічної біохімії
5. **Форма впровадження:** науково-навчальний процес кафедри.
6. **Ефект від впровадження:** поглиблення знань студентів щодо розвитку окиснювального стресу в організмі щурів з хімічно індукованим канцерогенезом
7. **Строки впровадження:** 2020 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри біоорганічної і
біологічної хімії та клінічної біохімії
кандидат біологічних наук, доцент

Н.П. Григор'єва

ДОДАТОК В.3

Затверджую

Проректор з науково-педагогічної
(навчальної роботи)Вінницького національного
медичного університету ім.М.І.Пирогова
професор Ю.Й.Гумінський

2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Активність вільнорадикальних процесів в організмі щурів з експериментальним канцерогенезом

2. Установа, автор: Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра медичної біохімії, Грицишин Лілія Євгенівна

3. Джерело інформації: Грицишин Л.Є. Окиснювальний стрес та ендогенна інтоксикація в щурів за умов експериментального канцерогенезу та після застосування цитостатиків / Л.Є. Грицишин, Л.С. Фіра, П.Г. Лихацький // Вісник проблем біології та медицини. – 2020. – №1. – С.58-62.

2. Грицишин Л.Є. Стан антиоксидантної системи у щурів за умов диметилгідразин-індукованого канцерогенезу та застосування цитостатичної терапії / Л.Є. Грицишин, Л.С.Фіра, П.Г.Лихацький // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2019. – №3. – С.30-36.

4. Де впроваджено: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра біологічної та загальної хімії

5. Форма впровадження: Використання результатів наукових досліджень О.І. Качур в навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів медичного, стоматологічного факультетів щодо розвитку окиснювального стресу, що сприяє кращій підготовці студентів з теми «Травлення, всмоктування та транспорт ліпідів. Перекисне окислювання ліпідів. Каскад арахідонової кислоти».

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань студентів щодо розвитку окиснювального стресу в організмі щурів з хімічно індукованим канцерогенезом

7. Строки впровадження: 2020-2021 н.р.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри біологічної та загальної хімії ВНМУ ім. М.І. Пирогова, № 12 від 27. 01. 2021 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри
біологічної та загальної хімії
доктор мед.наук, професор

Н.В.Заїчко

ДОДАТОК В.4



«Затверджую»

Проректор з наукової роботи
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького
професор А.Й. Наконечний

28 грудня 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: Активність вільнорадикальних процесів в організмі щурів з експериментальним канцерогенезом

2. Установа, автор: Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра медичної біохімії, Грицишин Лілія Євгенівна

3. Джерело інформації: Грицишин Л.Є. Окиснювальний стрес та ендогенна інтоксикація в щурів за умов експериментального канцерогенезу та після застосування цитостатиків / Л.Є. Грицишин, Л.С. Фіра, П.Г. Лихацький // Вісник проблем біології та медицини. – 2020. – №1. – С.58-62.

2. Грицишин Л.Є. Стан антиоксидантної системи у щурів за умов диметилгідразин-індукованого канцерогенезу та застосування цитостатичної терапії / Л.Є. Грицишин, Л.С.Фіра, П.Г.Лихацький // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2019. – №3. – С.30-36.

4. Де впроваджено: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра медичної біології.

5. Форма впровадження: науково-навчальний процес кафедри.

6. Ефект від впровадження: поглиблення знань студентів щодо розвитку окиснювального стресу в організмі щурів з хімічно індукованим канцерогенезом

7. Строки впровадження: 2020-2021 н.р.

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри медичної біології
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького,
доктор біологічних наук, професор

З.Д. Воробець