

УДК 636:612(075.8)

ЭФФЕКТЫ ТАВАМИНА НА ФЕРМЕНТНЫЕ СИСТЕМЫ ПРИ ОПУХОЛЕВОМ РОСТЕ

М. Г. Величко, Е. Г. Кравчик

УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 230008,
г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail: ggau@ggau.by)

Ключевые слова: *асцитная опухоль Эрлиха, тавамин, альдегиддегидрогеназа, алкогольдегидрогеназа, лактатдегидрогеназа, глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа.*

Аннотация. *Исследованы ферментные системы обмена альдегидов в тканях мышей-опухоленосителей при парентеральном введении тавамина. Обнаружено увеличение утилизации ацетальдегида в печени и почках в альдегид и алкогольдегидрогеназной реакциях в интенсивный период роста асцитной опухоли Эрлиха. Тавамин вызывал снижение активности НАДФ-зависимой АльДГ (субстрат гликолевый альдегид), активируя НАД-зависимые ферменты, ответственные за утилизацию альдегидов в альдегид и алкогольдегидрогеназной реакциях.*

Изменения активности кислой фосфатазы при указанных воздействиях имеют такую же направленность, что и в случае щелочной фосфатазы. Так, активность кислой фосфатазы в печени мышей с опухолью увеличивается на 4-е сутки (на 21 %), на 8-е сутки (на 57 %), а на 12-е сутки – на уровне показателя контрольной группы. Введение тавамина позволяет снизить этот показатель на 53 % (на 8-е сутки).

EFFECTS OF TAWAMINE ON ENZYME SYSTEMS AT TUMOR GROWTH

M.G. Velichko, E.G. Kravchik

EI «Grodno state agrarian university»
Grodno, Republic of Belarus (Republic of Belarus, 230008, Grodno, 28 Tereshkova st.; e-mail: ggau@ggau.by)

Key words: *Ehrlich ascites tumor, tavamine, aldehyde dehydrogenase, alcohol dehydrogenase, lactate dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase.*

Summary. *The enzyme systems of aldehyde metabolism in the tissues of tumor-bearing mice with parenteral administration of tavamine were studied. An increase in the utilization of acetaldehyde in the liver and kidneys in aldehyde and alcohol dehydrogenase reactions in the intensive growth period of Ehrlich ascites tumor was found. Tavamine caused a decrease in the activity of NADP-dependent ALDH (substrate glycolaldehyde), activating NAD-dependent enzymes responsible for the utilization of aldehydes in the aldehyde and alcohol dehydrogenase.*

Changes in the activity of acid phosphatase under these influences have the same orientation as in the case of alkaline phosphatase. So the activity of acid phosphatase in the liver of mice with a tumor increases on the 4th day (by 21 %), on the 8th day (by 57 %), and on the 12th day – at the level of the control group. The introduction of tavamine can reduce this indicator by 53 % (on the 8th day).

(Поступила в редакцию 31.05.2020 г.)

Введение. Среди многообразных нарушений, вызываемых присутствием опухоли в организме, процессы метаболизма альдегидов и особенно их уровень остаются малоизученными, хотя многочисленные реакции углеводного, белкового и липидного обменов продуцируют или используют вещества альдегидной природы [1]. Эндогенно образующиеся в организме альдегиды активно взаимодействуют с полиаминами и гистонами, регуляторами функционирования геномах [3].

В проблеме эндогенного канцерогенеза в настоящее время выделилось направление, основным содержанием которого является изучение связи обмена эндогенных субстратов альдегидной и спиртовой природы с развитием новообразований и коррекции нарушенного обмена препаратами, содержащими аминокислоты [2, 11, 13].

Аминокислоты являются основным строительным материалом для синтеза тканевых белков, ферментов, пептидных гормонов и других эндогенных соединений и биологически активных веществ живых организмов. Назначаемые в различных дозах могут проявлять неспецифические, фармакодинамические свойства, кроме того, могут выступать как составные части молекул лекарственных веществ, коррелируя специфическое действие препарата.

Ряд авторов для проведения коррекции метаболических и морфофункциональных нарушений считает необходимым использование биологически активных природных соединений на основе незаменимых аминокислот и их смесей. Тавамин – комплексный аминокислотный препарат, состоящий из лейцина (51 %), таурина (19 %), валина (17 %) и изолейцина (13 %). Наиболее близкий зарубежный аналог «Falkamin» не содержит таурина и применяется в качестве гепатопротекторного средства.

Комплексный аминокислотный препарат «Тавамин» малотоксичен, не кумулируется в организме, нормализует деление популяций клеток костного мозга мышей с солидным вариантом асцитной опухоли Эрлиха, снижает скорость осмотического гемолиза эритроцитов, восстанавливает изменение метаболизма и функциональной активности иммунокомпетентных клеток.

Цель работы – изучение активности альдегидметаболизирующих систем и ферментов обмена углеводов в тканях мышей-опухоленосителей при введении тавамина.

Материал и методика исследований. Эксперименты проведены на нелинейных белых мышах-самцах (18-20 г), содержащихся на обычном рационе вивария. Асцитную опухоль Эрлиха перевивали в дозе $1,5 \times 10^6$ клеток внутривентрально от мыши-донора на 8-е сутки роста опухоли. Влияние тавамина на функциональную активность ферментов альдегидметаболизирующих систем моделировали внутрижелудочным введением тавамина, в 0,85%-м растворе NaCl в дозах 143 мг/кг [4, 5]. Начиная со 2-х по 8-е сутки после перевивки АОЭ, мышам опытной группы ежедневно вводили препарат, контролем служили мыши (интактные и с опухолью), получавшие сбалансированные по объему, количеству и времени инъекции 0,85%-го раствора NaCl. В каждой группе было по 8 животных. Через 24 ч после окончания введения препарата мышей декапитировали. Забой животных осуществляли декапитацией, вводимых в состояние наркоза с помощью хлороформа. Объектом исследования служила ткань печени, почки, опухоли (клетки и асцитная жидкость). Активность альдегиддегидрогеназы [2, 14] определяли в супернатанте. С этой целью клетки гомогенизировали при 0 °С в среде, содержащей 0,25 М трис-HCl 5 мМ, ЭДТА-Na соль 0,5 мМ, при pH 7,2 с последующим центрифугированием в течение 30 мин при 10000g для получения супернатанта. Активность АльДГ определялась спектрофотометрически по изменению оптической плотности за 5 мин после добавления субстратов при λ - 340 нм на спектрофотометре VSU-2P (ГДР). За единицу активности принимали соответственно окисление 1 мкмольа НАД или НАДФ/мг белка/мин при 25 °С. Концентрацию белка в растворах определяли по методу [9].

Статистическая обработка результатов исследований проведена с помощью пакета прикладных программ STATISTIKA for Windows. Результаты экспериментов выражали в виде среднего значения и стандартной ошибки средней величины – $\bar{x} \pm Sx$. Достоверность различий между группами оценивали параметрическим методом с применением t-критерия Стьюдента. Разница между группами считалась достоверной при $P < 0,05$

Результаты исследований и их обсуждение. Тавамин использовался в наших экспериментах, поскольку уже накоплено достаточно данных о противоопухолевом эффекте аминокислот [4, 5, 6, 15], однако механизм этого действия еще не достаточно ясен. Ранее нами было высказано предположение о возможной реализации противоопухолевого действия через метилглиоксаль или другие альдегиды, катаболизм

которых контролируется АльДГ [4]. Тавамин вызывал снижение активности НАДФ-зависимой АльДГ (субстрат ГА) в печени, активируя НАД-зависимый фермент, метаболизирующий гликолевый альдегид в печени и почках, а также НАДФ-зависимую АльДГ в печени – субстрат АА (таблицы 1 и 2).

Выявленные эффекты испытуемого соединения дали возможность предположить, что функциональная активность НАД/НАДФ-зависимой альдегиддегидрогеназы (субстрат гликолевый альдегид) в определенной степени сопряжена с ферментом транскетолазой, не исключено, что АльДГ (использующая гликолевый альдегид как субстрат) составляет с транскетолазой определенный функциональный комплекс, который сохраняется даже при очистке транскетолазы.

Таблица 1 – Активность НАД-зависимой альдегиддегидрогеназы в супернатанте печени мышей (интактных и с асцитной опухолью Эрлиха) в интенсивный период роста опухоли при воздействии тавамином (нмоль/мин/мг белка)

Субстрат	НАД-зависимая		
	интактные	опухоль	Оп + Тавамин
Ацетальдегид	3,3 ± 0,3	5,8 ± 0,3*	3,0 ± 0,56
Гликолевый	10,1 ± 0,06	7,5 ± 0,09*	15,5 ± 0,04*
Бензальдегид	0,20 ± 0,01	не выявляется	не выявляется

Примечание –* $P < 0,05$

Это предположение проверено при определении активности АльДГ в гомогенатах и элюатах, полученных при выделении транскетолазы (33 % очистки) из печени мышей (интактных и опухоленосителей). Во всех фракциях, в которых имелась транскетолаза, сохранялась активность АльДГ. Однако в препарате транскетолазы из печени опухоленосителя она меньше в 5 раз (НАД-зависимая) и в 15 раз (НАДФ-зависимая), кроме того, в препарате транскетолазы из печени опухоленосителя в 3 раза меньше активность НАДФ-зависимой АльДГ, чем у интактных животных.

Таблица 2 – Активность НАДФ-зависимой альдегиддегидрогеназы в супернатанте печени мышей (интактных и с асцитной опухолью Эрлиха) в интенсивный период роста опухоли при воздействии тавамином (нмоль/мин/мг белка)

Субстрат	НАДФ-зависимая		
	интактные	опухоль	Оп + Тавамин
Ацетальдегид	0,6 ± 0,08	1,6 ± 0,1	5,6 ± 0,016
Гликолевый	2,3 ± 0,3	2,03 ± 0,13	1,8 ± 0,02*
Бензальдегид	не выявляется	не выявляется	не выявляется

Примечание –* $P < 0,05$

Это указывает на то, что фермент из печени опухоленосителя более лабильный и функциональный комплекс менее стойкий, чем в препарате печени интактных контрольных животных. В супернатанте печени НАД-зависимая АльДГ (субстрат гликолевый альдегид) у интактных животных почти в 5 раз выше по активности, чем НАДФ-зависимая. Опухолевый процесс снижает вклад НАД-зависимой АльДГ, использующей ГА. Это соотношение уменьшается до 3.

В супернатанте почек мышей активность НАД-зависимого фермента выявлялось с тремя субстратами, а именно: с ацетальдегидом, гликолевым и ароматическим альдегидами. Причем с гликолевым альдегидом активность у опухолевых животных была в 3 раза выше, чем у интактных животных, а введенный тавамин не снижал обнаруженную закономерность (таблица 3).

Таблица 3 – Активность НАД-зависимой альдегиддегидрогеназы в супернатанте почек мышей (интактных и с асцитной опухолью Эрлиха) в интенсивный период роста опухоли при воздействии тавамина (нмоль/мин/мг белка)

Субстрат	НАД-зависимая		
	интактные	опухоль	Оп + Тавамин
Ацетальдегид	0,20 ± 0,008	0,24 ± 0,019	0,19 ± 0,03
Гликолевый	0,16 ± 0,009	0,75 ± 0,08 *	0,79 ± 0,06*
Бензальдегид	0,20 ± 0,01	0,20 ± 0,025	0,24 ± 0,022

Примечание –* $P < 0,05$

Иная закономерность выявлена для НАДФ-зависимой альдегиддегидрогеназы. Активность фермента была ниже в 2 раза с гликолевым альдегидом и выше в 2-2,5 раза с бензальдегидом. Причем применение тавамина не оказывало существенного влияния на активность этого фермента (таблица 4).

Таблица 4 – Активность НАДФ-зависимой альдегиддегидрогеназы в супернатанте почек мышей (интактных и с асцитной опухолью Эрлиха) в интенсивный период роста опухоли при воздействии тавамина (нмоль/мин/мг белка)

Субстрат	НАДФ-зависимая		
	интактные	опухоль	Оп + Тавамин
Ацетальдегид	0,05 ± 0,009	0,077 ± 0,01	0,09 ± 0,005*
Гликолевый	0,27 ± 0,016	0,29 ± 0,019	0,41 ± 0,019*
Бензальдегид	0,076 ± 0,018	0,074 ± 0,011	0,068 ± 0,013

Примечание –* $P < 0,05$

Тавамин в опухолевом организме вызывал активацию алкогольдегидрогеназы (субстрат этанол) не оказывая существенного влияния на активность этого фермента в почках.

Изменения в активности фермента, использующего АА как субстрат, возможно связано с особенностями функционирования пируватдегидрогеназного комплекса при опухолевом росте в ткани печени [15].

Таблица 5 – Активность алкогольдегидрогеназы в печени мышей самцов (интактных и опухоленосителей) в интенсивный период роста опухоли при воздействии тавамином

Группы животных	Алкогольдегидрогеназа (АА) пмоль/мин/мг белка	Алкогольдегидрогеназа (этанол) пмоль/мин/мг белка
Контроль	24,4 ± 0,9	13,1 ± 0,8
опухоль	38,8 ± 1,8	12,3 ± 0,6
опухоль + тавамин	38,1 ± 8,7	27,0 ± 1,0*

Примечание – * $P < 0,05$

Известно, что при заболеваниях печени, сопровождающихся поражением паренхимы и острым клеточным некрозом печени, отмечается умеренное возрастание активности ЩФ. В наших исследованиях, показано, что активность щелочной фосфатазы в печени мышей увеличивается на 4-е сутки (на 29 %), на 8-е сутки (на 22 %), а на 12-е сутки – на уровне показателей контрольной группы. При введении тавамина этой группе мышей активность фермента на 4-е сутки также увеличена, на 8-е сутки составляет 83 % от контрольных значений и нормализуется к исходу 12-х суток.

Опухолевый рост в большей степени оказывает влияние на активность щелочной фосфатазы: уже на 4-е сутки после перевивки АКЭ активность фермента составляет 136 % (по сравнению с интактным контролем), на 8-е сутки – 83 %, на 12-е сутки – 169 %.

Введение тавамина группе мышей с опухолевым ростом позволяет снизить активность щелочной фосфатазы (на 12-е сутки) на 38 % по сравнению с аналогичной группой животных, не получавших тавамина.

Изменения активности кислой фосфатазы при указанных воздействиях имеют такую же направленность, что и в случае щелочной фосфатазы. Так, активность кислой фосфатазы в печени мышей с опухолью увеличивается на 4-е сутки (на 21 %), на 8-е сутки (на 57 %), а на 12-е сутки – на уровне показателей контрольной группы. Введение тавамина позволяет снизить этот показатель на 53 % (на 8-е сутки).

В этом эксперименте изучалась в печени активность следующих ферментов: лактатдегидрогеназы (ЛДГ), глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы, алкогольдегидрогеназы (АДГ).

При исследовании активности ЛДГ были выявлены следующие изменения. На 4-е сутки эксперимента у опухолевых животных актив-

ность ЛДГ достоверно повышалась по отношению к контролю, а тавамин понижал ее до уровня контрольного значения. На 8-е сутки отмечалось достоверное повышение активности ЛДГ при введении им тавамина за сутки до декапитации. Через 12 суток эксперимента наблюдали достоверное повышение активности фермента после введения раствора тавамина.

Кроме того, алифатические альдегиды: ацетальдегид, метилглиоксаль, гликолевый альдегид – как продукты образуются в ряде тиаминзависимых реакций [1, 3, 7], которые при онкопроцессе изменены [1, 4]. С другой стороны, метаболизм альдегидов контролируется неспецифической алкоголь и альдегиддегидрогеназными системами [10, 11, 12]. Последнее звено особенно важно, когда речь идет о коррекции нарушений, возникающих в процессе онкогенеза и при различных методах лечения опухолевых процессов [1, 4].

Заключение. Наши данные об активности изученных ферментов в печени и почках животных с опухолью свидетельствуют о значимости этих систем в метаболизме эндогенных токсинов альдегидной и спиртовой природы, появляющихся в организме вследствие системного действия опухоли. Полученные результаты не исключают возможности коррекции нарушений, индуцированных опухолевым ростом и гепатитом, и предполагает дальнейшее изучение аминокислотных композиций, отработку их доз и режимов введения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев, В. С. Метаболизм метилглиоксаля и злокачественные новообразования / В. С. Алексеев, Н. В. Алексеева // Укр. биохим. журн. – 1990. – Т. 62, № 2. – С. 13-22.
2. Активность альдегиддегидрогеназы в печени мышей с асцитной опухолью Эрлиха / М. Г. Величко [и др.] // Вести АН БССР. Сер. биол. наук. – 1985. – Т. 1. – № 5. – С. 74-78.
3. Голубев, А. Г. Изнанка метаболизма (обзор) / А. Г. Голубев // Биохимия. – 1996. – Т. 61. – № 12. – С. 2018-2039.
4. Сравнительная оценка действия окситиамина и некоторых его производных на животных с асцитным раком Эрлиха / Т. И. Зиматкина [и др.] // Экспериментальная онкология. – 1986. – Т. 1. – № 2. – С. 68-70.
5. Островский, Ю. М. Пируват и лактат в животном организме / Ю. М. Островский, М. Г. Величко, Т. И. Якубчик. – Минск: Наука и техника, 1984. – 196 с.
6. Требухина, Р. В. Особенности метаболизма тиамина в организме при росте злокачественных опухолей. Автореф. дисс... докт. биол. наук. Минск: Ин-т физиологии АН БССР, 1984. – 32 с.
7. Modification of liver membranes by aldehyde end-products of lipid peroxidation / V. Buko [et al.] // Current Topics in Biophysics. – 1995. – V.18, No 3. – P. 195-201.
8. Goldschmidt, B. M. Role of aldehydes in carcinogenesis / B. M. Goldschmidt // J. Environ. Sci. Health.-1984. – V.2, № 2. – P. 231-249.
9. Protein measurement with the folin phenol reagent / O. H. Lowry [et al.] // J. Biol / Chem. – 1951. – V. 193, N 1. – P. 265-275.
10. Oqunleye, J. O. Properties of serum alcohol dehydrogenase in Nigerians with primary hepatoma / J. O. Oqunleye, S. O. Olusi // Ann Clin. Biochem. – 1991. – V. 8, № 6. – P. 606-612.

11. Petering, H. G. The anti-tumor activity of 2-keto-3-ethoxybutyraldehyde bis (thiosemicarbazone) & related compounds / H. G. Petering, H. H. Buskirk, G. E. Underwood // *Cancer Res.* – 1964. – V. 24, № 3. – P. Part 1. – P. 367-372.
12. Radin, A. I. Structure & expression of the cytosolic aldehyde dehydrogenase gene in cyclophosphamide-resistant murine leukemia L1210 cells / A. I. Radin [et al.] // *Biochemm Pharmacol.* – 1991. – V. 42, № 10. – P. 1933-1939.
13. Torronen, R. Induction of aldehyde dehydrogenase by polycyclic aromatic hydrocarbons in rats / R. Torronen, U. Nousiainen, O. Hanninen // *Chem. Biol. Interact.* – 1981. – V. 36, N 1. – P. 33-44.
14. Tottmar, O. The subcellular distribution & properties of aldehyde dehydrogenase in rat liver / O. Tottmar, H. Pettersson, K. Kiessling // *Biochem. J.* – 1973. – V. 135. – P. 577-586.
15. Trebukhina, R. V. Thiamine metabolism in the liver mice with Ehrlich ascites carcinoma / R. V. Trebukhina [et al.] // *Neoplasma.* – 1982. – V. 29, N 3. – P. 257-268.

УДК 619:615.3:636.32/38:612.32

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ СРЕДСТВА ПРОТИВ КЕТОЗА У КОРОВ В ТРАНЗИТНЫЙ ПЕРИОД

Д. В. Воронов¹, А. Ф. Макарович¹, А. Н. Михалюк¹, Д. В. Шешко²

¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 230008,

г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail: ggau@ggau.by);

² – ЧПУП «Алникорпродукт Вертелишки»

д. Вертелишки, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 231751,
Гродненский р-н, д. Вертелишки, ул. Советская, 25)

***Ключевые слова:** крупный рогатый скот, транзитный период, кетоз, кетонные тела, кровь, жировая гепатодистрофия, профилактика, эффективность.*

***Аннотация.** В статье анализируется профилактическая эффективность использования кормовой добавки «Ални-Гепо» и пропиленгликоля сухого. Эти добавки применяют для профилактики кетоза. Кормовая добавка «Ални-Гепо» позволяет улучшить качество молока (содержание иммуноглобулинов на 7,6 % выше, чем у коров, получавших пропиленгликоль). Применение кормовой добавки «Ални-Гепо» позволяет контролировать концентрацию кетонных тел, в частности – βГМК. У животных регистрировали существенное снижение βГМК. Разница за весь период наблюдений между группами составила 54,8 %.*