

УДК 616-006.04:618.19:615.373

О.М. Перепелиціна¹, О.В. Ястребова¹, О.М. Якимчук^{1,2}, С.В. Безуглий¹, Н.П. Юрченко^{1,3},
М.В. Сидоренко¹, Л.І. Остапченко²

ВПЛИВ ЛІЗАТУ КЛІТИН КІСТКОВОГО МОЗКУ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ МИШЕЙ ТА РОЗВИТОК АДЕНОКАРЦИНОМИ ЕРЛІХА

ІДУ «Відділення біотехнічних проблем діагностики Інституту проблем кріобіології і кіромедицини НАН України»

2 ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету ім. Тараса Шевченка

³ Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.С. Кавецького НАН України

Резюме. У роботі наведені результати дослідження впливу лізату клітин кісткового мозку миші (ККМ) на біохімічні показники сироватки крові та розвиток пухлинного процесу в організмі мишей лінії Balb2 на моделі перевивної карциноми Ерліха. У результаті виявлено, що введення лізату ККМ сприяло гальмуванню розвитку солідної форми карциноми Ерліха у м'язі стегна піддослідних тварин на 16 % при одноразовому введенні, та на 31 % при багаторазовому введенні. Виявлено, що введення лізату ККМ знижувало швидкість росту пухлин на 37 %. Пухлина не розвинулась у 10 % тварин. Крім того, ін'єкція лізату ККМ мишей сприяла нормалізації деяких показників біохімії крові піддослідних тварин. Так, загальний білок підвищується лише на 15-18 % при одноразовому введенні лізату та залишав-

ся в нормі при багаторазовому введенні. Рівень альбуміну при однократному введенні лізату знижується на 29,5 %. При багаторазовому введенні цей показник був у межах норми. Активність АЛТ при однократному введенні лізату підвищується на 103-137 %, а при багаторазовому введенні лише на 48-73 %, порівняно з контролем. Підтвердження нормалізації стану м'язових тканин стегна піддослідних тварин отримано на зразках гістологічних препаратів. Наведені дані демонструють протипухлинний ефект від введення інактивованої суспензії ККМ на моделі карциноми Ерліха.

Ключові слова: клітини кісткового мозку, експериментальні пухлини, біохімічні показники сироватки крові.

Вступ. Пошук нових терапевтичних підходів лікування пацієнтів залишається актуальним і сьогодні. Традиційні методи лікування поступово замінюються більш ефективними з використанням внутрішніх можливостей самого організму. Клітинна замісна терапія - новий напрямок у медицині, що використовує здатність стовбурових клітин, зокрема мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) відновлювати тканини і органи людини [3, 5]. По всьому світу вивчають можливості клітинної терапії і застосовують навіть для лікування хвороб, які до цього часу вважалися невиліковними при традиційних підходах терапії, у тому числі і для раку [3, 11]. Є багато особливостей, які роблять цю нову стратегію привабливою і перспективною. Терапія на основі ККМ вже використовується в клінічній практиці [7, 8]. Доклінічні дослідження показали ефективність застосування генореконструйованих ККМ, які несуть протипухлинні препарати. Наприклад, МСК секретують ряд факторів, фізіологічний ефект яких полягає у пригніченні запальної реакції та імносупресії: ІЛ-4, ІЛ-10, фактор росту пухлини-бета (ФРП-β), фактор росту гепатоцитів (ФРГ), простагландин Е2 (ПГЕ2), ІФН-α [4]. Клітини імунної системи виділяють у вогнищі запалення великий спектр про- і протизапальних факторів, у тому числі білки-цитокіни: фактор некрозу пухлини альфа (ФНП), інтерферони альфа і гамма (ІФН-α, -γ), інтерлейкіни (ІЛ-1β, ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ-8). Таким чином, взаємна регуляція включає вплив клітин імунної системи через медіатори імунної відповіді (цитокіни, хемокіни, простагландини) на МСК, і навпаки, у відповідь - вплив МСК на клітини імунної системи [15], ендотеліальні клітини, моноцити і макрофаги [10]. Також МСК залучені в процеси

клітинної виживаності, міграції та взаємодії з позаклітинним матриксом. Одночасно, джерела літератури свідчать про неоднозначність впливу МСК та ККМ на пухлинні клітини і важливість ґрунтового вивчення онкогенного потенціалу як МСК кісткового мозку, так і інших стовбурових клітин дорослого організму перед початком клітинної терапії [9]. Експериментальне моделювання злоякісних пухлин у тварин є основою вивчення канцерогенезу і протипухлинної дії різноманітних препаратів.

Мета дослідження. З'ясувати вплив лізату клітин кісткового мозку миші (ККМ) на біохімічні показники сироватки крові та розвиток пухлинного процесу в організмі мишей із модульованою перещеплювальною асцитною карциномою Ерліха.

Матеріал і методи. У досліді використано 60 лабораторних мишей лінії Balb/2с, тварини поділені на 6 груп, по 10 тварин у кожній. Всі розчини для ін'єкцій готувалися в стерильних умовах на фізіологічному розчині, із розрахунку 100 мкл на тварину.

Для індукції пухлини використовували лінію перевивної карциноми Ерліха. Клітини карциноми Ерліха підтримувалися в асцитній формі шляхом внутрішньоочеревинного введення мишам лінії Balb/2с, у кількості $5 \cdot 10^6$ клітин на 0,5 мл фізіологічного розчину на тварину. При внутрішньом'язовій ін'єкції клітини аденокарциноми Ерліха (ЕАК) вводилися у праве стегно (в/м) на 1 см вище від колінного суглоба, у концентрації 10^6 клітин на тварину. При внутрішньоочеревинному введенні клітини карциноми Ерліха вводилися із розрахунку $5 \cdot 10^6$ клітин на тварину. Лізат клітин кісткового мозку миші вводився внутріш-

ньоочеревинно (в/ч), посередині черева, на 2 см вище від анального отвору з розрахунку 10^6 клітин на тварину.

I група – інтактні тварини; II група – внутрішньом'язова ін'екція карциноми Ерліха, III група – внутрішньоочеревинна ін'екція лізату клітин кісткового мозку; IV група – внутрішньоочеревинна ін'екція ЕАК; V група – внутрішньом'язова ін'екція ЕАК та однократна ін'екція лізату клітин кісткового мозку; VI група – внутрішньом'язова ін'екція ЕАК та 8-кратна ін'екція лізату від 10^6 клітин кісткового мозку.

Строк ведення досліду – 1 міс. Всі групи утримували у стандартних умовах віварію. До груп відібрано порівню як самців, так і самиць. Внутрішньом'язову ін'екцію робили у праве стегно. Для визначення фізіологічного стану тварини та спостереження за перебігом захворювання один раз на тиждень тварин зважували та вимірювали об'єм правого стегна (при внутрішньом'язовій ін'екції). Усі досліди на тваринах проводили відповідно до конвенції Ради Європи про захист хребетних тварин, яких використовують з науковою метою.

Через 1 міс. мишей виводили з експерименту шляхом декапітації зі збором крові для біохімічних аналізів. Біоматеріал (цільна кров) забирали у тварин в один і той же час з 10-ї до 11-ї год ранку. Цільну кров інкубували 40 хв при 37°C , потім центрифугували (20 хв, 2000 об/хв) і отримували сироватку. В отриманій сироватці визначали наступні біохімічні показники: загальний білок, альбумін, аспартатамінотрансферазу (АСТ; 2.6.1.1) і аланінамінотрансферазу (АЛТ; 2.6.1.2). Досліди проводили уніфікованими лабораторними методами на автоматичному біохімічному аналізаторі ФП-901М ("Лабсистем"), який дозволяє встановити концентрацію досліджуваних речовин за протоколами визначення кінетики зміни ферментативної активності та за стандартом.

Стовбурові клітини миші виділяли із стегнової кістки дорослих мишей за протоколом 9.5 [6] без подальшого культивування. З однієї тварини виділялося в середньому $3 \cdot 10^7$ живих клітин кісткового мозку. Кількість виділених клітин підраховували за допомогою трипанового синього та розводили до концентрації 10^7 клітин/мл у стерильному фізіологічному розчині. Потім клітинну суспензію заморожували до -20°C протягом 0,5 год. Після повільного розморожування та пипетування отримано клітинну масу (лізат). За даними мікроскопічного дослідження та МТТ аналізу [13], лізат складався з фрагментів клітинних органел, мембран та цитоплазми, без живих клітин. Лізат витримували при кімнатній температурі 1 годину, після чого проводили внутрішньоочеревинну ін'екцію піддослідним тваринам із розрахунку: лізат від 10^6 клітин на тварину. Ін'екцію повторювали кожні 4 дні (група 6).

Відбір пухлинних тканин із сусідніми тканинами для гістологічного дослідження проводили у двох тварин з кожної групи через 10, 20 та 30 днів після ін'екції. Зразки тканин фіксували у 4 %

забуференому формаліні та заливали в парафінові блоки. У подальшому виготовляли гістологічні зрізи (5 мкм). Зразки забарвлювали в гематоксилін-еозини та досліджували за допомогою мікроскопа Carl Zeiss Fluoval і фотографували на камеру Canon.

Для статистичної обробки даних використовували обробку малих вибірок ($2 \leq n < 20$) та визначення розподілу за критерієм Ст'юдента [2]. Нормальність розподілу отриманих даних перевірено за критерієм Шапіро-Уїлкі [1].

Результати дослідження та їх обговорення.

Маса тіла – один із важливих показників, який відображає життєдіяльність живого організму. Тварин зважували раз на три дні та вимірювали діаметр правого стегна на відстані 1 см від колінного суглоба. За час проведення досліду в V групі померла 1 тварина. Результати зміни маси тварин у всіх групах наведено на рис. 1.

За результатами вимірювання найбільший приріст маси тіла спостерігався у тварин IV групи як у самців, так і у самиць. При цьому маса тіла самців була вище контрольних показників на 21,8 %, а самиць – на 22,0 %. Збільшення маси тіла, порівняно з першим днем зважування, становило для самців – 21,2 %, а для самиць – 35 %. Тварини II групи перші два тижні набирали масу, але потім їх маса зменшилась до стартових показників та в результаті майже не змінилась, порівняно з першим днем експерименту. Тварини III групи за місяць ведення досліду масу достовірно не змінили, так само як і групи V: на 28-ий день експерименту маса достовірно не відрізнялася від контролю. Тварини IV групи набирали масу тіла по-різному, залежно від статі. Так, маса тіла самців достовірно не збільшилась, а маса тіла самиць збільшилась на 16 %. Таким чином, можна відзначити, що приріст маси у піддослідних тварин свідчить про збільшення клітинної маси пухлини. Це спостерігалось в більшій мірі у тварин, котрим проводилась внутрішньоочеревинна перевишка карциноми Ерліха (група IV). За результатами вимірювання зменшення приросту маси тіла відмічали у самиць групи IV, самців та самиць групи V. При внутрішньом'язовій ін'екції карциноми без додаткового введення лізату стовбурових клітин (група II) розвиток пухлини майже не вплинув на масу тварин.

Для більш повного відображення кінетики (росту) пухлини, при внутрішньом'язовій ін'екції було проведено вимірювання окружності стегна в зазначених групах тварин (рис. 2).

Особливу увагу при порівнянні приділено групам мишей, яким проведено перевишку карциноми Ерліха внутрішньом'язово (група II) без ін'екції лізату стовбурових клітин, з однократною ін'екцією (група V) та 8-кратною ін'екцією (група VI). Виявлено, що в самців II групи окружність стегна збільшується у 2,75 рази, порівняно з інтактним контролем (група I). Натомість при одноразовому введенні лізату стовбурових клітин (група V) ріст пухлини гальмується, окружність

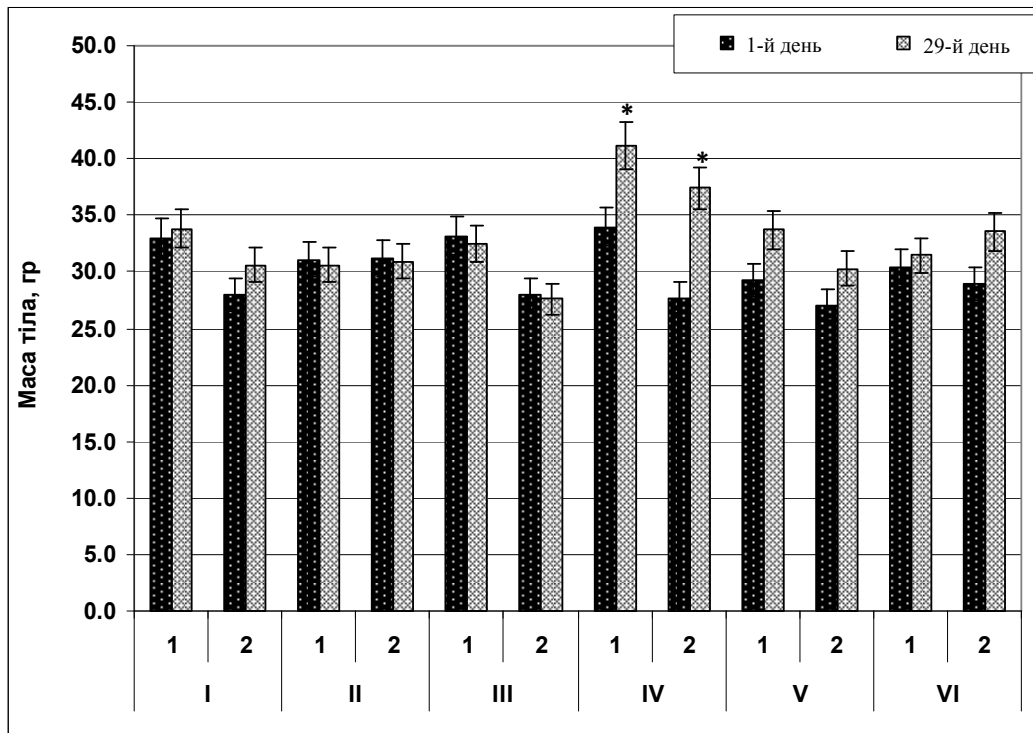


Рис. 1. Маса підослідних тварин в умовах перевивання аденокарциноми Ерліха (ЕАК) та ін'єкції лізату клітин кісткового мозку миші

Примітка. * $p < 0,05$. 1 – самці, 2 – самиці відповідних груп; I – група інтактних тварин; II – група, яка отримала внутрішньом'язову ін'єкцію ЕАК, III – група, яка отримала внутрішньоочеревинну ін'єкцію лізату клітин кісткового мозку; IV – група, яка отримала внутрішньоочеревинну ін'єкцію ЕАК; V – група, тварини якої отримали внутрішньом'язову ін'єкцію ЕАК та однократну ін'єкцію лізату клітин кісткового мозку; VI – група, тварини якої отримали внутрішньом'язову ін'єкцію ЕАК та 8-кратну ін'єкцію лізату клітин кісткового мозку

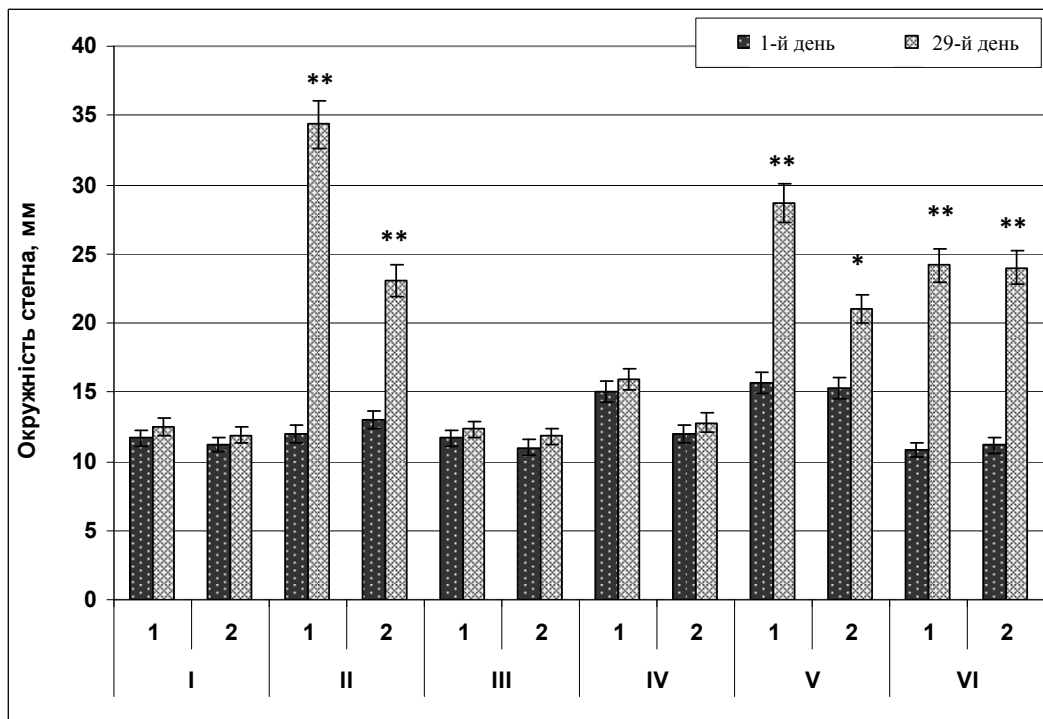


Рис. 2. Окружність стегна підослідних тварин в умовах перевивання аденокарциноми Ерліха (ЕАК) та ін'єкції лізату клітин кісткового мозку миші

Примітка. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$. 1 – самці, 2 – самиці відповідних груп; I – група інтактних тварин; II – група, яка отримала внутрішньом'язову ін'єкцію ЕАК, III – група, яка отримала внутрішньоочеревинну ін'єкцію лізату клітин кісткового мозку; IV – група, яка отримала внутрішньоочеревинну ін'єкцію ЕАК; V – група, тварини якої отримали внутрішньом'язову ін'єкцію ЕАК та однократну ін'єкцію лізату клітин кісткового мозку; VI – група, тварини якої отримали внутрішньом'язову ін'єкцію ЕАК та 8-кратну ін'єкцію лізату від клітин кісткового мозку

стегна збільшується у 2,3 раза, а при 8-кратному введенні лізату – лише в 1,9 раза, порівняно з контролем. У самиць, навпаки, багаторазове введення лізату навіть дещо стимулює ріст пухлини, порівняно з однократним введенням (група V) та за відсутності додаткових впливів на карциному (група II). Приріст окружності стегна складає відповідно у 2,0 (група VI), 1,77 (група V) та 1,9 раза (група II).

Для визначення, в якій із груп порівняння найкраще вдалося призупинити пухлинний ріст, та беручи до уваги рівний розподіл самців та самиць у всіх групах, було визначено середній приріст довжини окружності стегна по всіх тваринах у групі. У II групі цей показник перевищив контроль у 2,33 раза, у V групі – у 2,04 раза, а в VI групі – в 1,96 раза. Таким чином, можна дійти висновку, що при одноразовому введенні лКМм вдалося призупинити ріст пухлини у м'язі стегна на 17 % у самців і на 9 % у самиць. Зауважимо, що багаторазове введення лізату ККМм гальмувало ріст пухлини на 31 % у самців та стимулювало на 5 % у самиць.

Біохімічні показники крові є першими ознаками, за якими роблять висновки про стан гомеостазу організму. Тому нами проведено визначення біохімічних показників крові піддослідних тварин, за якими характеризують стан організму, зміни в білковому обміні та активність печінкових ферментів (табл.).

Враховуючи важливість стану білкового обміну, у лабораторних тварин визначали вміст загального білка в сироватці крові. Так, рівень загального білка залишався в рамках норми в групах I, III, VI (самці). У самиць групи VI відзначено підвищення рівня загального білка, порівняно з інтактними тваринами та нормою на 31 %. Так само підвищений рівень загального білка відзначено в групі II на 36 % у самців і на 40,5 % у самиць та групі VI: на 18 % у самців і на 15 % у самиць. Натомість у IV групі визначено суттєве зниження рівня загального білка на 45 % у самців та на 51 % у самиць (табл.). Можливою причиною зниження показника загального білка в нашому експерименті є залежність розвитку пухлини та ступеня руйнування м'язів від способу введення ЕАК. Внутрішньоочеревинні ін'єкції ЕАК порушують діяльність не тільки печінки, а й нирок і кишечника, тому порушується засвоєння білків, що призводить до білкового голодування, порушення обміну речовин, затримки росту та зниження репродуктивної функції тварин (група IV). При внутрішньом'язовій ін'єкції ЕАК (групи II, V, VI), певно, має місце дисбаланс між синтезом та розпадом білків через зміни активності печінкових ферментів. Тому при потраплянні білків зі зруйнованих пухлиною м'язових тканин рівень загального білка підвищується порівняно з даними норми та контролю. А введення лізату дещо гальмує ріст пухлини та розпад м'язів, внаслідок чого знижується рівень загального білка (групи V, VI).

Одним із значущих показників стану організму є рівень альбуміну. Альбумін – це основний білок крові, який виробляється в печінці. Визначення альбуміну використовується для діагностики захворювань печінки і нирок, ревматичних, онкологічних захворювань. Рівень альбуміну у піддослідних тварин може свідчити про активність цього білка в печінці (табл.).

Як показують наші дані, при асцитній формі карциноми Ерліха (група IV) синтез білків у печінці порушується найбільше. Тому рівень альбуміну знижується на 59 % у самців та на 66 % у самиць. Внутрішньом'язові ін'єкції карциноми також дещо знижують рівень альбуміну в крові тварин, що свідчить про порушення метаболізму білків. Так, у II групі зниження рівня альбуміну становить 19 % у самців та 20 % у самиць, а у тварин III групи ці показники в нормі. При однократному введенні лізату стовбурових клітин (V група) рівень альбуміну знижується на 33 % у самців та на 26 % у самиць. Натомість у тварин, котрим проводилася 8-разова ін'єкція лізату стовбурових клітин (група VI) показники вмісту загального білка статистично в нормі. Ми вважаємо, що відбувається це перш за все через зміну активності печінкових ферментів, а саме АСТ (табл.) та АЛТ (табл.). Для оцінки цього припущення ми визначили рівень АЛТ та АСТ у піддослідних тварин, оскільки одночасне визначення активності двох амінотрансфераз (АЛТ і АСТ) є цінним діагностичним тестом для оцінки стану систем організму. Аланінамінотрансфераза (АЛТ) – фермент, що бере участь у метаболізмі амінокислот у клітині. Найбільший вміст у печінці, нирках, підшлунковій залозі, серцевому м'язі, скелетних м'язах. У клітині фермент локалізується в цитоплазмі, тому будь-яке пошкодження клітин призводить до збільшення його кількості (активності) в крові. Органічні ураження тканин при гострих або хронічних захворюваннях, що супроводжуються некрозом клітин будь-якої етіології, призводять до виходу АЛТ з ділянки ураження в кров'яне русло, що також призводить до підвищення її активності в крові. У свою чергу, аспартатамінотрансфераза (АСТ) – це клітинний фермент, який знаходиться у високій концентрації в серцевому м'язі, клітинах печінки, клітинах м'язів скелета і в менших обсягах в інших тканинах. Підвищений рівень АСТ у сироватці крові не є специфічним показником захворювання печінки. Використовується, головним чином, для діагностики та контролю перебігу хвороб печінки поряд з іншими ферментами, такими, як АЛТ. Отримані нами значення активності ферментів показали, що рівень АСТ підвищується як при розвитку солідної форми ЕАК у стегновому м'язі (групи II, V, VI), так й при розвитку асцитної форми ЕАК (група 4). Збільшення активності АСТ у крові піддослідних тварин групи II відзначено на 156 % у самців та на 133 % у самиць. У групі V також підвищується наявність АСТ у крові на 152 % у самців та на 172 % у самиць.

Таблиця

**Вміст загального білка, альбуміну, активності аланінаміно-
трансферази у крові піддослідних тварин при ін'єкціях ЕАК (в/м та в/ч)
та введенні лізату клітин кісткового мозку мишей (ЛККМм)**

Умови експерименту	Загальний білок	Альбумін	Активність Аланінаміно-трансферази	Активність Аспартатаміно-трансферази
	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
Інтактний контроль				
самці	72,0±3,75	33,0±1,82	61,0±3,16	75,0±4,24
самиці	83,0±4,26	34,0±1,78	55,0±3,06	91,0±4,89
Група I				
самці	85,4±4,45	32,0±1,10	78,8±3,22	230,0±11,85
самиці	86,4±4,68	35,0±1,38	69,3±3,60	288,2±15,41
Група II				
самці	116,4±5,57	26,7±1,84	185,0±11,13	589,2±28,13
самиці	121,6±6,95	28,1±1,88	170,0±10,15	671,9±32,50
Група III				
самці	80,7±4,24	32,0±1,85	64,7±3,54	324,9±16,25
самиці	82,4±4,52	33,1±2,66	58,9±2,95	497,3±24,97
Група IV				
самці	47,2±2,80	14,2±0,75	249,4±13,47	539,6±27,12
самиці	41,5±2,18	12,5±0,68	228,9±11,55	775,0±38,75
Група V				
самці	100,8±5,24	21,6±1,28	160,0±8,54	578,6±29,67
самиці	97,4±4,97	26,1±1,35	164,0±8,25	784,0±39,75
Група VI				
самці	85,8±4,89	35,1±1,88	136,6±6,99	625,2±32,78
самиці	112,3±5,62	38,8±1,95	102,8±5,57	758,4±37,92

Така ж саме тенденція спостерігалася у групах IV та V. Тільки в групі 3 підвищення активності АСТ становить 72 % у самиць, і лише 41 % у самців (табл.). При цьому додаткове введення лізату стовбурових клітин, яке сприяє гальмуванню росту пухлини, не викликає зниження рівня АСТ у крові мишей. Найбільший позитивний ефект при гальмуванні росту пухлини спостерігається при 8-кратному введенні лізату (група VI), при цьому рівень АСТ збільшується як у самців, так і в самиць: на 172 % і 163 % відповідно. Ми припускаємо, що підвищення рівня АСТ у тварин з асцитною формою карциноми Ерліха (група IV), скоріш за все, пов'язано з порушенням функціонування печінки та органів черевної порожнини, як і порушення цілісності м'язових клітин, що також сприяє виходу у кров'яне русло АСТ та АЛТ (табл.).

Найбільший рівень АЛТ спостерігався нами у тварин групи IV та групи II. Цей показник перевищував контрольні на 216 % у самців та 230 % у самиць групи II, та на 134 % у самців та 145 % у самиць групи IV. У крові тварин групи III значення АЛТ у нормі. У тварин групі V показник акти-

вності АЛТ перевищує контроль на 103 % у самців та на 137 % у самиць. Найближчими до контрольних показників був рівень АЛТ у групі VI, саме плюс 73 % у самців та 48 % у самиць. АЛТ є клітинним ферментом, який є маркером розпаду клітин з будь-яких причин (токсини, віруси, фізичне руйнування). Тому зрозуміло, чому найбільші показники АЛТ у нашому експерименті спостерігаються у тварин груп II, V, VI, – це відбувається при розпаді м'язів (табл.). А також при розвитку асцитної форми карциноми (група IV). Введення лізату кісткового мозку дещо гальмує ріст пухлин та нормалізує рівень АСТ та АЛТ у крові тварин (табл.).

За даними гістологічного дослідження, введення лізату клітин кісткового мозку мишей піддослідним тваринам сприяло гальмуванню росту перевивної пухлини (рис. 3 – 6). Так, на рис.4, А – В спостерігаємо розвиток солідної форми карциноми Ерліха у м'язовій тканині. Клітини асцитного гіперхроматичні, спостерігається поліморфізм ядер. Спочатку клітини мігрують між м'язовими клітинами, формують мікропухлини (рис.4,А). У подальшому м'язова тканина деградує внаслідок

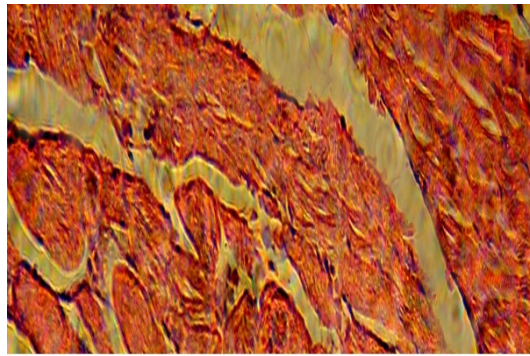


Рис. 3. Група I. Препарат контрольного зразка м'язової тканини (м) інтактних тварин. Гематоксилін/еозин, × 250. Чітко видно м'язові волокна та струму

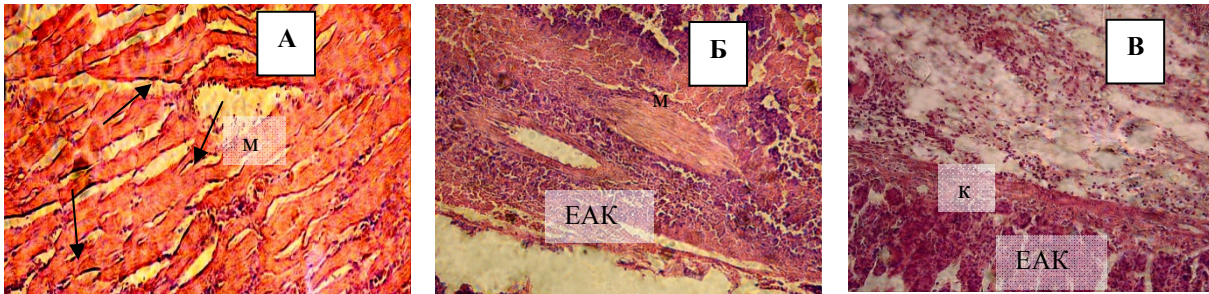


Рис. 4. Група II. Зразки м'язової тканини при різних стадіях розвитку карциноми Ерліха. Контроль внутрішньом'язової ін'єкції ЕАК. Гематоксилін/еозин, × 250. А – Інвазія окремих асцитних пухлинних клітин ЕАК (стрілки) серед м'язових волокон (м). Б – Проліферація клітин ЕАК з окремими зонами м'язової тканини (м). В – Формування солідної пухлини ЕАК з тонкою стінкою капсули (к) та асцитним наповненням

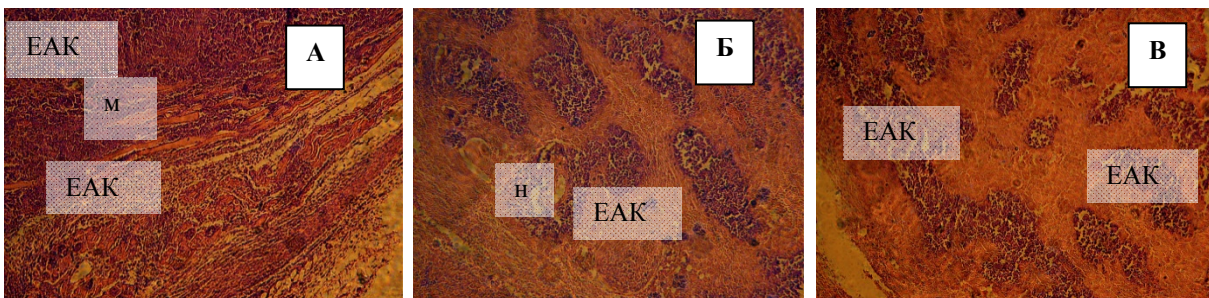


Рис. 5. Група V. Однократна черевна ін'єкція лізату клітин кісткового мозку та внутрішньом'язова ін'єкція ЕАК. Гематоксилін/еозин, × 250. А – Проліферація клітин ЕАК між м'язовими клітинами. Б – Утворення пухлин з зонами некрозу (н). В – Злиття окремих пухлин

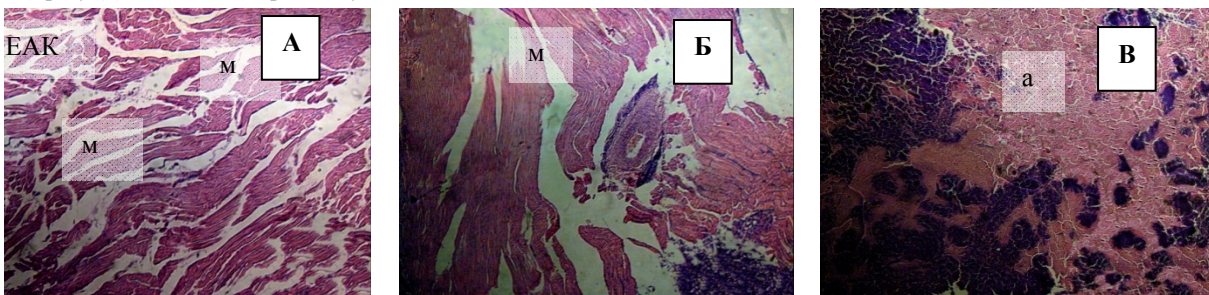


Рис. 6. Група VI. Восьмикратна черевна ін'єкція лізату клітин кісткового мозку та внутрішньом'язова ін'єкція ЕАК. Гематоксилін/еозин, × 250. А – Архітектура м'язової тканини збережена, з окремими асцитними пухлинними клітинами. Б – Утворення солідних пухлин між м'язовими волокнами. В – Залишки м'язової тканини в оточенні пухлинних клітин ЕАК та зонами атрофії тканини (а)

нестачі поживних речовин, а пухлинні клітини заповнюють об'єм тканини (рис.4,Б). Формуються фібрилярні структури капсули пухлини з асцитним наповненням (рис.4,В). У зразках групи V (рис.5, А – В) спостерігалось незначне уповільнення утворення солідної форми пухлини. Одночасно у тварин групи VI (рис. 6, А – В) відзнача-

лося суттєве зниження темпу росту пухлини, порівняно з інтактною формою карциноми (група II). Таким чином групи V та VI демонстрували різну кінетику розвитку перевивної пухлини у солідній формі у м'язовій тканині стегна.

Наші дослідження підтверджують дані літератури про позитивний ефект від уведення інак-

тивованої суспензії зруйнованих ККМ при розвитку пухлинного процесу [12]. Це проявляється як у зменшенні розмірів пухлини або зникненні дрібних метастазів, так і в поліпшенні загального стану організму.

Висновок

При одноразовому введенні лізату стовбурових клітин вдалося загальмувати ріст солідної форми карциноми Ерліха у м'язі стегна на 17 % у самців і на 9 % у самиць. Багаторазове введення лізату гальмувало ріст пухлини на 31 % у самців. Така ж сама схема дещо стимулювала ріст пухлини Ерліха в самиць (на 5 %). Ін'єкція лізату клітин кісткового мозку мишей сприяло нормалізації таких показників біохімії крові піддослідних тварин, як загальний білок, рівень альбуміну, активність аланін амінотрансферази та аспартатамінотрансферази. При цьому 8-кратне введення лізату клітин кісткового мозку мишей було більш ефективне, ніж однократне.

Перспективи подальших досліджень. Сподіваємося, що дослідження умов протипухлинної дії стовбурових клітин, на рівні тваринної моделі, дозволить розробити дієві протипухлинні засоби на базі лізатів стовбурових клітин людини без ризику стимулювання пухлинної прогресії та клітинного зараження.

Література

1. Кобзарь А.И. Прикладная математическая статистика / А.И. Кобзарь. – М.: Физматлит, 2006. – 238 с.
2. Орлов А.И. Прикладная статистика / А.И. Орлов. – М.: Издательство «Экзамен», 2004. – 482с.
3. Betancourt A.M. The Role of Mesenchymal Stem Cells in the Tumor Microenvironment / A.M. Betancourt, R.S. Waterman // In: Biswas S. Tumor Microenvironment and myelomonocytic cells. – 2012. – P. 298.
4. Ferrantini M.F. Interferon-alpha and cancer: mechanisms of action and new perspectives of clinical use / M.F. Ferrantini, I. Capone, F. Belardelli // Biochimie. – 2007. – Vol. 89. – P. 884-893.

5. Gomes C. The dual role of mesenchymal stem cells in tumor progression / C. Gomes // Stem Cell Research & Therapy. – 2013. – Vol. 4, № 42. – P. 1-2.
6. Gregory C.A. Prockop Fundamentals of culture and characterization of mesenchymal stem/progenitors cells (MSCs) from bone marrow stroma / C.A. Gregory, J. Darwin // In: Freshney R.I, Stacey G.N, Auerbach J.M, editors. Culture of human stem cells. New Jersey: Wiley-Interscience. – 2007. – P. 224-226.
7. Han X. Inhibition of intracranial glioma growth by endometrial regenerative cells / X. Han, Y. Meng, Z. Yin // Cell Cycle. – 2009. – Vol. 8. – P. 606-610.
8. Hida N. Novel cardiac precursor-like cells from human menstrual blood-derived mesenchymal cells / N. Hida, N. Nishiyama, S. Miyoshi // Stem Cells. – 2008. – Vol. 26. – P. 1695-1704.
9. Honoki K. Cancer Stem Cell Nich: Stem cells in tumor microenvironment / K. Honoki, H. Fujii // Cancer stem cells-the cutting edge. – 2011. – Vol. 10, № 121. – P. 189-193.
10. Kinniard T. Marow-derived stromal cells express genes encoding a broad spectrum of arteriogenic cytokines and promote in vitro and in vivo arteriogenesis through paracrine mechanisms / T. Kinniard, E. Stabile, S. Burnett // Circ. Res. – 2004. – Vol. 5, № 94. – P. 678-685.
11. Krampera M. Regenerative and immunomodulatory potential of mesenchymal stem cells / M. Krampera, A. Pasini, G. Pizzolo // Curr. Opin. Pharmacol. – 2006. – Vol. 6, № 4. – P. 435-441.
12. Lu Y.R. The growth inhibitory effect of mesenchymal stem cells on tumor cells in vitro and in vivo / Y.R. Lu, Y. Yuan, X.J. Wang // Cancer Biol. Ther. – 2008. – Vol. 2. – P. 245-251.
13. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays / T. Mosmann // J. Immunol. Methods. – 1983. – Vol. 65, № 1-2. – P. 55-63.
14. On claims of order of conducting preclinical study of medications and examinations of materials of preclinical study of medications: Order of Ministry of Health of Ukraine, 14.12.09 N944. Available at <http://zakon.Rada.Gov.Ua/clibin/laws/mains.cginregz/0053-10>.
15. Syzdaltseva Yu.G. Effect of mesenchymal stem cells of adipose tissue on the activation of peripheral blood lymphocytes in vitro / Yu.G. Syzdaltseva, Yu.P. Rubtsov // Cellular Transplantation and Tissue Engineering. – 2011. – Vol. 4. – P. 73-84.

ВЛИЯНИЕ ЛИЗАТА СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ МЫШЕЙ И РАЗВИТИЕ АДЕНОКАЦИНОМЫ ЕРЛИХА

*Е.М. Перепелицына¹, Е.В. Ястребова¹, Е.М. Якимчук^{1,2}, С.В. Безуглый¹,
Н.П. Юрченко^{1,3}, М.В. Сидоренко¹, Л.И. Остапченко²*

Резюме. В работе представлены результаты исследования влияния лизата клеток костного мозга мыши (ККМ) на показатели биохимии сыворотки крови и развитие опухолевого процесса в организме мышей линии Balb2 на модели перевивной карциномы Эрлиха. В результате было обнаружено, что введение лизата ККМ способствовало торможению развития солідной формы карциномы Эрлиха в мышце бедра подопытных животных на 16 % при однократном введении, и на 31 % при многократном введении. Обнаружено, что введение лизата ККМ снижало скорость роста опухолей на 37 %. Опухоль не развилась у 10 % животных. Кроме того, введение лизата ККМ мышцей способствовало нормализации некоторых показателей биохимии крови подопытных животных. Так, общий белок повышался только на 15-18 % при однократном введении лизата ККМ, и оставался в норме при многократном введении. Уровень альбумина при однократном введении лизата ККМ снижался на 29,5 %. При многократном введении этот показатель был в пределах нормы. Активность АЛТ при однократном введении лизата повышалась на 103-137 %, а при многократном введении только на 48-73 %, по сравнению с контролем. Подтверждение нормализации состояния мышечных тканей бедра подопытных животных получено также на образцах гистологических препаратов. Приведенные данные демонстрируют противоопухолевый эффект от введения инактивированной суспензии стволовых клеток на модели карциномы Эрлиха.

Ключевые слова: клетки костного мозга, экспериментальные опухоли, биохимические показатели сыворотки крови.

EFFECT OF LYSATE BONE MARROW STEM CELLS ON BIOCHEMICAL PARAMETERS OF MICE BLOOD AND EHRLICH ADENOCARCINOMA DEVELOPMENT

*O.M. Perepelytsina¹, O.V. Yastrebova¹, O.M. Yakumchuk^{1,2}, S.V. Bezuglyi¹,
N.P. Yurchenko^{1,3}, M.V. Sydorenko¹, L.I. Ostapchenko²*

Abstract. The paper presents the results of investigation of influence of bone marrow cells lysate from mouse (BMCm) on blood biochemistry and development of tumor on transplantable Ehrlich carcinoma model in Balb2 mice. As a result, it was found that injection of BMCm lysate inhibited growth of a solid form of Ehrlich carcinoma in the thigh muscle of experimental animals by 16 % after a single dose, and at 31 % at the multiple procedures. It has been found that the infusion of stem cells mass decreased rate of tumor growth by 37 %. The tumor has not occurred in 10 % of animals. In addition, the injection of BMCm lysate contributed normalization of some indicators of blood chemistry test of animals. Thus, the total protein increased only in 15-18 % after a single dose of BMCm lysate injection and remained normal during multiple procedures. Albumin level decreased by 29,5 % after a single injection of BMCm lysate. When repeated, this procedure led to normalization of albumin level. ALT activity in a single BMCm lysate injection group increased to 103-137 %, while in multiple injections group ALT activity was only by 48-73 % higher than in control samples. Confirmation of normalization of thigh tissue structure was also obtained in histological observation. These data demonstrated the anti-tumor effect of inactivated lysate of BMCm on the Ehrlich carcinoma model.

Key words: bone marrow cells, experimental tumors, biochemical indicators of blood serum.

¹SI «Department of Biotechnical Problems of Diagnostic,
Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of NAS (Kyiv)
²NSC "Institute of Biology," Taras Shevchenko National University of Kyiv
³RE Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology,
National Academy of Sciences of Ukraine (Kyiv)

Рецензент – проф. І.С. Давиденко

Buk. Med. Herald. – 2016. – Vol. 20, № 4 (80). – P. 139-146

Надійшла до редакції 28.10.2016 року