

БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛАКТОПЕРОКСИДАЗЫ СЫВОРОТКИ МОЛОКА КОЗЫ

Проведено биохимическое исследование лактопероксидазы (ЛПО) (1.11.1.7) молока козы. Определена молекулярная масса выделенного белка, которая составила 83 кДа. При электрофоретическом анализе ферментативного гидролизата термоденатурированной ЛПО получен основной фрагмент с молекулярной массой около 15 кДа, а также установлено, что нативная ЛПО не подвергается действию трипсина. Выявлена прямо пропорциональная зависимость скорости окисления тетраметилбензидина-3,3',5,5' (ТМБ) от концентрации ЛПО. При окислении ЛПО ТМБ определены: оптимум pH – 5,0–5,2; K_M (константа Михаэлиса) – 0,161 мМ; k_{cat} (каталитическая константа) – 607 с^{-1} ; k_{cat}/K_M – $3,7 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$. Полученные результаты можно использовать для контроля качества и оценки эффективности действия ЛПО молока козы при производстве продуктов питания и косметических препаратов.

Ключевые слова: лактопероксидаза; молекулярная масса; нативный электрофорез; константа Михаэлиса; каталитическая константа.

Lactoperoxidase (LPO) is an enzyme of the mammalian peroxidase family. LPO is found in mammalian secretory fluids including milk, tears, saliva and airway mucus. In each case LPO plays a role in antimicrobial defense by catalyzing oxidation of thiocyanate to cytotoxic hypothiocyanous acid with the help of H_2O_2 . A large number of different peroxidases have been purified and characterized, but biochemical properties of goat lactoperoxidase are still uncertain. Lactoperoxidase from goat milk was obtained by cation-exchange chromatography. Molecular mass of goat LPO (83 kDa) was determined by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. Goat LPO was treated with trypsin and a fragment of protein of mol. wt of 15 kDa was obtained, while native LPO did not digested by trypsin. Optimum pH, K_M , k_{cat} , k_{cat}/K_M were 5,0–5,2; 0,161 mM; 607 s^{-1} ; $3,7 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ respectively. LPO can be used as a biopreservative agent in food, feed specialties, cosmetics and related products.

Key words: lactoperoxidase; molecular weight; native gel electrophoresis; Michaelis constant; catalytic constant.

Лактопероксидаза (1.11.1.7) – это фермент класса оксидоредуктаз, относится к семейству пероксидаз млекопитающих, в которое также входят миелопероксидаза и пероксидаза щитовидной железы. ЛПО представляет собой гемсодержащий гликопротеин, который обнаруживается в молоке, слюне, слезной жидкости, на слизистой оболочке дыхательных путей [1].

ЛПО катализирует окисление субстрата при участии пероксида водорода, что приводит к генерации активных соединений с широким спектром антимикробного действия. Для этого требуются доноры электронов – галогениды или тиоцианаты. ЛПО участвует в естественных защитных системах организма против асимбиотической микрофлоры [2]. ЛПО препятствует развитию *Toxoplasma gondii* [3], некоторых грибов (*Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* и *Saccharomyces boulardii*) [4], бактерий (*Salmonella enteritidis*, *Enterobacter sakazakii*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus intermedius* [1] и др.) и вируса гриппа [5]. Кроме того, ЛПО защищает клетки дыхательных путей от пероксида водорода, который образуется в избыточных количествах при определенных заболеваниях. Некоторыми авторами было предложено применение ЛПО как в нативном виде, так и в комплексе с SCN^- и H_2O_2 (ЛПО-система) в качестве средства, продлевающего сроки хранения молока, сыра, йогурта, косметики, в качестве компонента зубных паст для профилактики гингивита, кариеса, зубного налета. ЛПО-система способна ингибировать *Helicobacter pylori*, а также может применяться при заболеваниях дыхательных путей [1, 2]. На модели *in vitro* было показано, что ЛПО препятствует остеокластогенезу [6]. Установлено бактериостатическое воздействие ЛПО в комбинации с низином на микроорганизмы, которые приводят к порче рыбы и рыбных изделий [1]. Добавление ЛПО совместно с лактоферрином к заменителям молока при кормлении телят уменьшает проявление диареи, снижает число КОЕ *E. coli* в тонком и толстом кишечнике и обуславливает формирование кишечных ворсинок нормальной формы по сравнению с контрольной группой [7].

Интерес к использованию ЛПО в качестве биоконсерванта в пищевой промышленности и производстве лекарственных средств значительно возрос после внедрения новых технологий получения ЛПО из молочной сыворотки. Была выделена и охарактеризована ЛПО женского, коровьего, овечьего, верблюжьего молока и молока других видов животных [1, 2], но систематического их изучения и сравнительного анализа ранее не проводилось. Цель настоящей работы – идентификация выделенной из сыворотки молока козы ЛПО и ее кинетический анализ.

Материал и методика исследования

Для проведения биохимических исследований использовались: ТМБ (Appli-Chem); трипсин (Fluka); маркеры молекулярной массы SM0431, SM0661 (Fermentas). ЛПО молока козы была получена методом катионообменной хроматографии. Молекулярную массу белков и чистоту полученного

белка устанавливали методом денатурирующего электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) [8]. Молекулярную массу различных белков сыворотки молока козы и полученной ЛПО определяли по графику зависимости расстояния, пройденного молекулами маркерных белков SM0661 при электрофорезе, от их молекулярной массы в полулогарифмических координатах.

Нативный электрофорез в ПААГ проводили без концентрирующего геля. Для приготовления разделяющего геля (10 %) использовали ацетатный буферный раствор, pH 4,3, в качестве переносчиков заряда в электродном буфере использовали β -аланин [9]. Все растворы готовили без додецилсульфата натрия. Во избежание денатурации ЛПО и потери активности в лунку вносили по 1,5 мкг фермента. Электрофорез проводили в течение 8 ч. Окраску геля на активность выполняли в ацетатном буфере pH 5 в присутствии 100 мкМ ТМБ и 30 мкМ H_2O_2 . Гель помещали в емкость с реакционной смесью на 4 ч для проявления окраски участков, содержащих ЛПО. Для построения пептидной карты ЛПО обрабатывали трипсином в течение 16 ч при 37 °С. Реакционная смесь содержала 10 мкг/мл ЛПО, 0,1 мкг/мл трипсина, буфер TRIS-HCl, pH 8 [10]. Полноту расщепления белка проверяли денатурирующим электрофорезом в ПААГ.

Начальную скорость окисления ТМБ определяли в области линейной зависимости изменения оптической плотности во времени, варьируя величину pH раствора (2,6–7,0), концентрацию ЛПО сыворотки молока козы (0,5–4,0 мкг/мл), концентрацию ТМБ (25–800 мкМ) с использованием молярного коэффициента поглощения ТМБ $\epsilon_{655} = 39\,000\, M^{-1} \cdot cm^{-1}$ [11]. Во всех случаях реакционная смесь содержала H_2O_2 в концентрации 0,2 мМ [12]. Зависимость начальной скорости реакции от концентрации фермента и концентрации ТМБ проводили при оптимуме pH. Кинетические параметры процесса окисления ТМБ ЛПО молока козы (K_M , $k_{кат}$ и их отношение) были получены графическим методом Лайнуивера – Берка. Эксперименты проводились с повторностью 3 раза. Пероксидазную активность определяли спектрофотометрически на спектрофотометре Solar PV 1251.

Результаты исследований и их обсуждение

ЛПО молока козы – гликопротеин с одной полипептидной цепью, содержащей 595 аминокислотных остатков. ЛПО молока других видов животных (коровы, верблюда, буйвола) и человека также имеют в своем составе одну полипептидную цепь из 595 аминокислот [1], по другим данным, ЛПО молока коровы состоит из 612 аминокислотных остатков [2]. У всех ЛПО аминокислотная последовательность обладает значительной степенью гомологии [1].

Электрофореграмма денатурированных додецилсульфатом натрия белков сыворотки молока козы, разделенных по молекулярной массе, и ЛПО, выделенной из сыворотки молока козы, представлена на рис. 1.

В сыворотке молока козы присутствует большое количество белков с молекулярной массой 80–85 кДа. К белкам, которые обнаруживаются во фракции 80–85 кДа, относится в числе прочих и ЛПО. Ранее ЛПО была выделена (и охарактеризована) из молока некоторых видов животных. ЛПО из женского молока при электрофорезе в ПААГ распадается на две фракции, которым соответствует молекулярная масса 80 и 100 кДа. Авторы исследования [13] делают вывод о том, что оба эти белка являются ЛПО. По данным других авторов, ЛПО молока коровы имеет молекулярную массу от 78 до 85 кДа [14, 15], ЛПО молока буйволицы – 73 кДа [16]. Эти данные соотносятся с молекулярной массой ЛПО молока козы – 83 кДа. Указанные различия в молекулярной массе могут быть связаны со способом получения или с различной степенью гликозилирования данного фермента [2]. Сходной молекулярной массой обладают также другие пероксидазы тканей животных: эозинофильная пероксидаза (70 кДа) [17], пероксидаза слюнных желез овец (82 кДа) [18] и крыс (75 кДа) [19], эстроген-зависимая пероксидаза секрета матки крыс (77 кДа) [20].

Лактоферрин (ЛФ), содержащийся в сыворотке молока, обладает сходной с ЛПО молекулярной массой и изоэлектрической точкой [21], поэтому может выделяться совместно с ЛПО, но не обладает активностью, свойственной ЛПО. Для идентификации ЛПО был проведен нативный электрофорез в ПААГ с последующей окраской на специфическую активность. На рис. 2 представлена

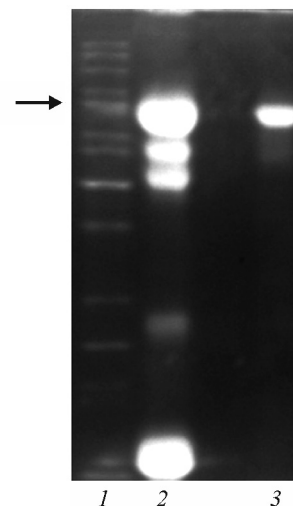


Рис. 1. Электрофореграмма белков сыворотки молока козы и ЛПО, выделенной из сыворотки молока козы: дорожка 1 – маркеры молекулярной массы SM0661; дорожка 2 – сыворотка молока козы; дорожка 3 – ЛПО молока козы; стрелкой указан маркер 85 кДа

денситограмма геля, окрашенного красителем Кумасси R-250, на наличие белка и ТМБ – на наличие специфической активности.

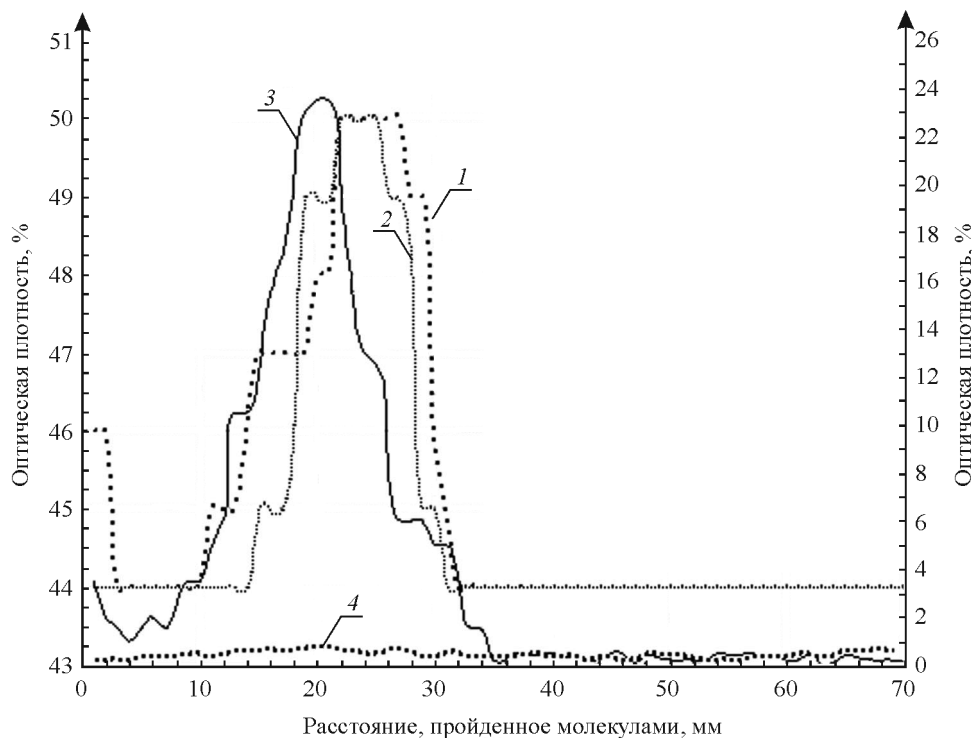


Рис. 2. Денситометрический анализ окраски ПААГ Кумасси R-250 и окраски ПААГ на специфическую активность ЛПО: левая ось у – окраска Кумасси R-250: 1 – ЛПО; 2 – ЛФ; правая ось у – окраска на наличие специфической активности; 3 – ЛПО; 4 – ЛФ

Как видно на рис. 2, в тех участках геля, где была нанесена ЛПО, выявлен характерный пик оптической плотности, который является результатом окисления ТМБ лактопероксидазой. Для ЛФ подобной картины не наблюдается. В контроле проводили окрашивание красителем Кумасси R-250. Наличие окраски указывает на присутствие в геле обоих белков. На рис. 2 также видно, что пик активности ЛПО сдвинут левее пика концентрации данного фермента, что указывает на потерю активности ЛПО молока козы в участках геля с наибольшей концентрацией белка, так как при электрофорезе белки мигрируют в виде отдельных полос, концентрация белка в которых может быть относительно высокой, что приводит к частичной потере ферментативной активности [9].

Таким образом, можно сделать вывод о том, что полученный нами белок является ЛПО на основании соответствия молекулярной массы и наличия специфической активности.

Для гидролиза пептидных связей при построении пептидной карты ЛПО молока козы был использован трипсин, который разрушает только те связи, в образовании которых участвуют аминокислоты аргинин и лизин [10]. В первичной структуре ЛПО [1] связей, образованных этими аминокислотами, множество, поэтому полученные после гидролиза трипсином пептидные фрагменты будут иметь небольшой размер.

При электрофоретическом анализе ферментативного гидролизата термоденатурированной ЛПО молока козы был выявлен основной фрагмент с молекулярной массой около 15 кДа (рис. 3). В то же время нативная (без тепловой денатурации) ЛПО молока козы трипсином не расщепляется (см. рис. 3). Полученные результаты согласуются с данными литературы, согласно которым ЛПО молока коровы не инактивируется трипсином [2].

ЛПО может окислять значительное количество различных соединений [2]. Для определения кинетических параметров ЛПО в качестве субстрата использовали ТМБ.

В процессе изучения зависимости скорости окисления ТМБ от pH было установлено, что максимум каталитической активности ЛПО сыворотки молока козы находится при pH 5,0–5,2, что близко по значению с другими пероксидазами животных. Так, например, для тиреоидной пероксидазы оптимум pH составляет 5,6 [22], в то время как для пероксидаз растений оптимум pH ниже, и для пероксидазы хрена при окислении ТМБ составляет 4,2–4,6 [23].

Наряду с рН-оптимумом K_M , $k_{кат}$ и их соотношение $k_{кат}/K_M$ являются основными параметрами кинетической характеристики фермента. Кинетические параметры ЛПО сыворотки молока козы (табл. 1, 2) были определены при изучении зависимости скорости пероксидазного окисления ТМБ от его концентрации в реакционной смеси и затем их сравнили с данными других авторов.

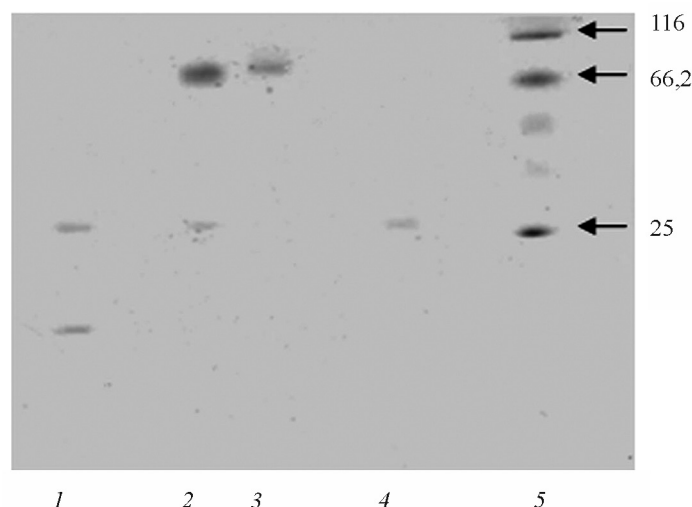


Рис. 3. Электрофореграмма пептидной карты ЛПО сыворотки молока козы: дорожка 1 – ЛПО, денатурированная нагреванием + трипсин; дорожка 2 – нативная ЛПО + трипсин; дорожка 3 – нативная ЛПО; дорожка 4 – трипсин; дорожка 5 – маркеры молекулярной массы SM0431, кДа

Таблица 1

Значения K_M для ЛПО при окислении различных субстратов

Субстрат	K_M , мМ	Источник
ТМБ	0,161	Настоящее исследование
<i>n</i> -ФДА	0,197	[13]
Эпинефрин	0,640	[13]
Катехол	63,95	[13]
ABTS	0,063	[13]
	0,20	[24]
	0,358	[25]
Пирогаллол	25,2	[13]
	4	[26]
Пероксид водорода	1,08	[26]

Как видно из табл. 1, K_M для ЛПО сыворотки молока козы при окислении ТМБ ниже, чем при окислении некоторых других субстратов (*n*-ФДА (*n*-фенилендиамин), эпинефрин, пирогаллол, катехол, пероксид водорода), в то время как для 2,2-азино-бис(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислоты) (ABTS) выше, чем для ТМБ. По другим данным, значение K_M при окислении ABTS больше, чем при окислении ТМБ.

Из табл. 2 видно, что значения K_M для пероксидазы хрена, тиреоидной пероксидазы и ЛПО для ТМБ близки по значению. Число оборотов фермента, или $k_{кат}$, и отношение $k_{кат}/K_M$ при окислении ТМБ для ЛПО молока козы ниже, чем для пероксидазы хрена, что говорит о более высокой каталитической эффективности пероксидазы хрена относительно ТМБ. Для тиреоидной пероксидазы значения данных констант и их отношение при окислении ТМБ ниже, чем для ЛПО, что в данном случае свидетельствует о более высокой каталитической эффективности ЛПО, чем тиреоидной пероксидазы при окислении ТМБ. Таким образом, ЛПО молока козы по значению $k_{кат}$ и отношению $k_{кат}/K_M$ при окислении ТМБ занимает промежуточное положение между тиреоидной пероксидазой и пероксидазой хрена.

Сравнение оптимума pH каталитической активности и кинетических параметров различных пероксидаз при окислении ТМБ

Фермент	Оптимум pH	$K_M \cdot 10^5, M$	$k_{кат}, c^{-1}$	$k_{кат}/K_M, M^{-1} \cdot c^{-1}$	Источник
Пероксидаза хрена	4,2–4,6	15	2564	$1,71 \cdot 10^7$	[27]
Тиреоидная пероксидаза	5,6	16,6	34,6	$2,09 \cdot 10^5$	[22]
Лактопероксидаза молока козы	4,8–5,2	16,1	607	$3,7 \cdot 10^6$	Настоящее исследование

Таким образом, в настоящей работе была определена молекулярная масса ЛПО сыворотки молока козы, которая составила 83 кДа, также было установлено наличие специфической активности данного фермента. При пептидном картировании денатурированной нагреванием ЛПО был выявлен основной фрагмент с молекулярной массой 15 кДа. Также было установлено, что нативная ЛПО не подвергается действию трипсина. Оптимум pH для ЛПО молока козы при окислении ТМБ составляет 5,0–5,2, что близко по значению с другими пероксидазами животных. По значению K_M , $k_{кат}$ и отношению $k_{кат}/K_M$ при окислении ТМБ ЛПО молока козы занимает промежуточное положение между тиреоидной пероксидазой и пероксидазой хрена.

Полученные результаты можно использовать для контроля качества и оценки эффективности действия ЛПО молока козы при производстве продуктов питания и косметических препаратов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Lactoperoxidase: structural insights into the function, ligand binding and inhibition / S. Sharma [et al.] // Int. J. Biochem. Mol. Biol. 2013. Vol. 4 (3). P. 108–128.
2. Kussendrager K. D., van Hooijdonk A. C. Lactoperoxidase: physico-chemical properties, occurrence, mechanism of action and applications // B. J. Nutr. 2000. Vol. 84, suppl. 1. P. 19–25.
3. Parasitocidal activity of bovine lactoperoxidase against *Toxoplasma gondii* / T. Tanaka [et al.] // Biochem. Cell Biol. 2006. Vol. 84 (5). P. 774–779.
4. The prohibitive effect of lactoperoxidase system (LPS) on some pathogenic fungi and bacteria / M. Sisecioglu [et al.] // Afr. J. Pharm. Pharmacol. 2010. Vol. 4 (9). P. 671–677.
5. Effects of orally administered bovine lactoferrin and lactoperoxidase on influenza virus infection in mice / K. Shin [et al.] // J. Med. Microbiol. 2005. Vol. 54. P. 717–723.
6. Purification and identification of lactoperoxidase in milk basic proteins as an inhibitor of osteoclastogenesis / Y. Morita [et al.] // J. Dairy Sci. 2011. Vol. 94. P. 2270–2279.
7. Leeuwen P. Effects of a lactoperoxidase system and lactoferrin, added to a milk replacer diet, on severity of diarrhoea, intestinal morphology and microbiology of digesta and faeces in young calves // J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr. 2000. Vol. 83. P. 15–23.
8. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. 1970. Vol. 227. P. 680–685.
9. García-Descalzo L. Gel Electrophoresis – Principles and Basics. Rijeka, 2012. P. 57–68.
10. A Critical Review of Trypsin Digestion for LC-MS Based Proteomics. Integrative Proteomics / H. K. Hustoft [et al.]. Rijeka, 2012. P. 57–68.
11. Leukocyte myeloperoxidase and salivary lactoperoxidase: identification and quantitation in human mixed saliva / E. L. Thomas [et al.] // J. Dent. Res. 1994. Vol. 73 (2). P. 544–555.
12. Fonteh F. A., Grandison A. S., Lewis M. J. Factors affecting lactoperoxidase activity // Intern. J. of Dairy Technology. 2005. Vol. 58. P. 233–236.
13. Shin K., Hayasawa H., Lonnerdal B. Purification and quantification of lactoperoxidase in human lactoperoxidase // Am. J. Clin. Nutr. 2001. Vol. 73. P. 984–999.
14. Ozdemir H., Aygul I., Kufrevioglu O. I. Purification of lactoperoxidase from bovine milk and investigation of the kinetic properties // Prep. Biochem. Biotechnol. 2001. Vol. 31 (2). P. 125–134.
15. Dumontet C., Rousset B. Identification, purification, and characterization of a non-heme lactoperoxidase in bovine milk // J. Biol. Chem. 1983. Vol. 258 (23). P. 14166–14172.
16. Purification, crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of lactoperoxidase from buffalo milk activity / R. Kumar [et al.] // Acta Cryst. 1995. Vol. 51. P. 1094–1096.
17. RhEPO (recombinant human eosinophil peroxidase): expression in *Pichia pastoris* and biochemical characterization / C. Ciaccio [et al.] // Biochem. J. 2006. Vol. 395. P. 295–301.
18. Characterization of sheep lacrimal gland peroxidase and its major physiological electron donor / A. Mazumdar [et al.] // Biochem. J. 1996. Vol. 314. P. 413–419.
19. De P. K. Tissue distribution of constitutive and induced soluble peroxidase in rat. Purification and characterization from lacrimal gland // Eur. J. Biochem. 1992. Vol. 206. P. 59–67.
20. Wagai N., Hosoya T. Partial purification of estrogen-dependent peroxidase rat uterus and milk with use of immunoabsorbents with antibodies against recombinant comparison of the properties with those of other animal peroxidases // J. Biochem. 1982. Vol. 91. P. 1931–1942.

21. *Castellino F. J., Fish W. W., Mann K. G.* Structural studies on bovine lactoferrin // JBC. 1970. Vol. 245 (1). P. 4269–4275.
22. *Sentchouk V. V., Grintsevich E. E.* Oxidation of benzidine and its derivatives by thyroid peroxidase // Biochemistry. Moscow, 2004. Vol. 69 (2). P. 251–259.
23. *Карасева Е. И., Гапоник П. Н., Метелица Д. И.* Влияние тетразола и его аминопроизводных на кинетику пероксидазного окисления хромогенных субстратов // Биоорганическая химия. 2004. № 3. С. 316–323.
24. *Uguz M. T., Ozdemir H.* Purification of bovine milk lactoperoxidase and investigation of antibacterial properties at different thiocyanate mediated // Appl. Biochem. Microbiol. 2004. Vol. 41 (4). P. 397–401.
25. Interactions of melatonin and serotonin with lactoperoxidase enzyme / M. Sisecioglu [et al.] // J. Enzyme Inhib. Med. Chem. 2010. Vol. 25, № 6. P. 779–783.
26. *Morell D. B.* Derivatives and kinetics of lactoperoxidase // Biochem. J. 1954. Vol. 56 (4). P. 683–690.
27. Антиоксидантная активность гваякола и его замещенных производных / М. В. Потапович [и др.] // Весці Нац. акад. навук Беларусі. Сер. хім. навук. 2012. № 3. С. 62–69.

Поступила в редакцию 16.12.2014.

Игорь Викторович Семак – кандидат биологических наук, доцент, заведующий кафедрой биохимии биологического факультета БГУ.

Екатерина Юрьевна Кохановская – аспирант кафедры биохимии биологического факультета БГУ. Научный руководитель – И. В. Семак.

УДК 591.2-006.6:615.28.001.6(476)

М. Ю. РЕВТОВИЧ, П. М. БЫЧКОВСКИЙ, О. В. КРАСЬКО, Ю. П. ИСТОМИН,
Е. Н. АЛЕКСАНДРОВА, А. И. ШМАК, Т. Л. ЮРКШТОВИЧ, Ф. Н. КАПУЦКИЙ, Н. В. ГОЛУБ,
В. А. АЛИНОВСКАЯ, Р. И. КОСТЕРОВА, С. О. СОЛОМЕВИЧ, Ю. И. РОГОВ

ИНТРАПЕРИТОНЕАЛЬНАЯ ХИМИОТЕРАПИЯ ПОЛИМЕР-ИММОБИЛИЗОВАННОЙ ФОРМОЙ ПРОСПИДИНА АСЦИТНОЙ ГЕПАТОМЫ ЗАЙДЕЛА

На модели трансплантированной асцитной гепатомы Зайдела оценена противоопухолевая активность гидрогеля фосфата декстрана, гидрогелевой и инъекционной форм проспицина. Препарат проспицина в инъекционной форме и в виде гидрогелей (в дозах 250, 500, 750, 1000 мг/кг), а также гидрогель фосфата декстрана (в дозах 500 и 1000 мг/кг) вводили крысам однократно внутривентриально (в объеме 1 или 2 мл на каждые 100 г веса животного). Исследования показали, что все лекарственные формы вызывают торможение прироста массы тела крыс с асцитной гепатомой Зайдела, а также достоверно повышают их среднюю продолжительность жизни. Отмечено статистически значимое увеличение кумулятивной выживаемости при применении полимер-иммобилизованной формы проспицина как при сравнении с контролем – [logrank: chi2 on 4 df = 60,5; $p = 0,000\ 001$], так и при сравнении с водными растворами проспицина 250 мг/кг – [logrank: chi2 on 1 df = 5,1; $p = 0,024$]. При сравнении гидрогелевой и инъекционной форм проспицина в дозах 500 и 750 мг/кг отмечена лишь тенденция к увеличению показателей кумулятивной выживаемости – [logrank: chi2 on 1 df = 3,4; $p = 0,067\ 1$] и [logrank: chi2 on 1 df = 3,1; $p = 0,080\ 2$] соответственно.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о возможности интраперитонеального применения гидрогелей проспицина при лечении и профилактике диссеминированных поражений брюшины и являются основанием для проведения аналогичных исследований в клинике.

Ключевые слова: противоопухолевая активность; проспицин; фосфат декстрана; пролонгированная форма.

Antineoplastic effect of hydrogel dextran phosphate, hydrogel prospidin and prospidin in an injectable preparation has been assessed using Seidel ascites hepatoma as a model. Injectable and hydrogel prospidin in doses from 250, 500, 750 to 1000 mg/kg and hydrogel phosphate dextran in doses of 500 and 1000 mg/kg were administered to rats intraperitoneally in a single dose in a volume of 1 or 2 ml per each 100 g of animal body weight. The study has shown that irrespective of their form all of the drugs applied display an inhibiting effect on the body mass growth of rats with Seidel ascites hepatoma and significantly increase their life expectancy. There was a statistically significant increase in the cumulative survival rate when using polymer-immobilized prospidin as compared with control – [logrank: chi2 on 4 df = 60,5; $p = 0,000\ 001$], and by comparison with aqueous prospidin solution 250 mg/kg – [logrank: chi2 on 1 df = 5,1; $p = 0,024$]. When comparing the hydrogel and aqueous prospidin solution in doses of 500 and 750 mg/kg, marked only a tendency to increase the performance of the cumulative survival – [logrank: chi2 on 1 df = 3,4; $p = 0,067\ 1$] and [logrank: chi2 on 1 df = 3,1; $p = 0,080\ 2$], respectively. The experimental data indicate the possibility of intraperitoneal application of hydrogels prospidin in the treatment and prevention of disseminated peritoneal lesions and are the basis for similar studies in the clinic.

Key words: antitumor activity; prospidin; dextran phosphate; prolonged form.

Диссеминация опухоли по брюшной полости рассматривается сегодня как распространенный, прогностически неблагоприятный опухолевый процесс. Лечение данной категории пациентов – сложная и до конца не решенная задача современной онкологии, что обусловлено ограниченными возможностями современных методов лечения в части воздействия на диссеминаты из-за плохой васкуляризации последних и слабого проникновения химиотерапевтических лекарственных средств через гемато-перитонеальный барьер. Применяемая в настоящее время интраперитонеальная химиотерапия характеризуется недостаточной эффективностью, поскольку не позволяет обеспечить пролонгацию противоопухолевой активности используемых с этой целью химиопрепаратов.