

І.М. Тодор

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології  
ім. Р.Є. Кавецького  
НАН України, Київ, Україна

**Ключові слова:** пухлина, гази крові, парціальний тиск, рівень лактату, медикаментозна резистентність.

## ПАРЦІАЛЬНИЙ ТИСК ГАЗІВ ТА РІВЕНЬ ЛАКТАТУ В КРОВІ ЩУРІВ З ЧУТЛИВИМИ ТА РЕЗИСТЕНТНИМИ ДО ЦИТОСТАТИКІВ ЗЛОЯКІСНИМИ ПУХЛИНАМИ

**Мета:** визначити парціальний тиск газів та рівень лактату в крові щурів з чутливими та резистентними до цитостатиків злоякісними пухлинами. **Об'єкт і методи:** дослідження проведено на щурах-самцях лінії Wistar масою 230–250 г. Щурам перещеплювали клітини карциноми Герена, чутливої та резистентної до цисплатину, та карциносаркоми Walker-256, чутливої та резистентної до доксорубіцину. В експоненційній фазі росту (9-та доба після перещеплення карциносаркоми Walker-256 та 13-та доба після перещеплення карциноми Герена) у суцільній крові визначали рН,  $pO_2$ ,  $pCO_2$  та рівень лактату. Визначення цих показників проводили за допомогою газоаналізатора крові ABL800FLEX («Radiometer», Данія). Для статистичної обробки даних використовували коефіцієнт Ст'юдента *t*. **Результати:** у тварин з резистентними пухлинами показники рН крові та  $pCO_2$  не відрізнялися від таких у щурів з чутливою пухлиною та інтактних тварин. Проте  $pO_2$  у крові щурів з резистентними пухлинами був статистично достовірно нижчим у порівнянні зі щурами з чутливою пухлиною. Рівень лактату в крові тварин з пухлинами (як чутливими, так і резистентними) був вищим відносно показників інтактних щурів. Виявлені закономірності були однаковими для обох експериментальних моделей пухлинного росту. **Висновки:** резистентні до медикаментозної терапії пухлини викликають більш негативний вплив на оксигенацію організму, ніж чутливі.

Процес біологічного окислення, у результаті якого відбувається вивільнення енергії хімічних сполук шляхом донорно-акцепторних взаємодій, є одним із важливих елементів енергетичного забезпечення клітин, включаючи пухлинні, і організму в цілому. Донорами електронів слугує велика кількість сполук, а в ролі акцептора електронів виступають, як правило, молекули вільного кисню. Кисневий гомеостаз забезпечує підтримання на заданому рівні усіх показників життєздатності організму.

Відомо, що у збереженні кисневого гомеостазу беруть участь усі функціональні системи організму, які забезпечують підтримання парціального тиску кисню ( $pO_2$ ) в клітинах та тканинах на необхідному рівні. Величина  $pO_2$  в середовищі, яке оточує клітину, є однією з найважливіших характеристик та визначає тканинну оксигенацію.

Оксигенація пухлин та ураженого злоякісним процесом організму досліджена недостатньо. Оскільки для вивчення оксигенації в різних системах застосовують різні методи, співставлення та інтерпретація отриманих результатів має бути дуже обережною. Крім того, з оксигенацією пухлини та організму пов'язаний рівень лактату як у пухлині, так і в крові.  $pO_2$  та рівень лактату є дуже важливими (інформативними) показ-

никами стану організму. Слід зазначити, що зниження  $pO_2$  викликає зниження активності «дихальних» ферментів та дегідрогеназ циклу Кребса [1–3].

Пухлинний процес призводить до гіпоксії організму. У свою чергу, гіпоксія впливає на ключові ланки прогресії злоякісного процесу: проліферацію, інвазію та метастазування [4, 5]. Реалізація цього впливу здійснюється за участю родини гіпоксія-індуцибельних факторів (Hypoxia-Inducible Factor – HIF) [6]. Крім того, знижений парціальний тиск  $O_2$  у пухлині та в організмі є вагомим чинником резистентності злоякісних клітин до радіо- та медикаментозної терапії [5, 7, 8]. Також є дані щодо впливу рівня  $pO_2$  на процеси епітеліально-мезенхімального переходу в нормальних та злоякісно трансформованих клітинах [9].

Тому в даній роботі ми дослідили показники парціального тиску газів, у першу чергу  $pO_2$ , та рівня лактату в суцільній крові щурів з чутливими та резистентними до цитостатиків злоякісними пухлинами.

### ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження було проведено на щурах-самцях лінії Wistar масою 230–250 г розведення віварію Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького Національної акаде-

мії наук України. Утримання тварин і роботу з ними здійснювали відповідно до загальноприйнятих міжнародних правил проведення досліджень на експериментальних тваринах.

У якості моделей пухлинного росту було використано карциному Герена та карциносаркому Уокер-256 (Walker-256). Для обох модельних пухлин характерна наявність двох штамів, що відрізняються за чутливістю до цитостатиків. Для карциноми Герена в якості цитостатика використаний цисплатин, для карциносаркоми Walker-256 — доксорубіцин. Пухлинні клітини обох штамів одержували з Банку клітинних ліній з тканин людини та тварин Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького Національної академії наук України.

Щурам перещеплювали під шкіру спини клітини карциноми Герена (чутливої та резистентної до цисплатину) або карциносаркоми Walker-256 (чутливої та резистентної до доксорубіцину) по 0,4 мл 23,0% суспензії пухлинної тканини в середовищі 199. Гальмування росту цисплатином чутливої карциноми Герена становило 92,0–94,0%, резистентної — 0,0–3,0%. Гальмування росту доксорубіцином чутливої карциносаркоми Walker-256 становило 72,0–77,0%, резистентної — 3,0–5,0%.

У межах досліджень кожної з модельних пухлин (карциноми Герена та карциносаркома Walker-256) тварин розділяли на три експериментальні групи: інтактні щури (n=10), щури з чутливою пухлиною (n=10), щури з резистентною пухлиною (n=10). В експоненційній фазі росту (9-та доба після перещеплення карциносаркоми Walker-256 та 13-та доба після перещеплення карциноми Герена) у сучільній крові визначали показники рН, рO<sub>2</sub>, рCO<sub>2</sub> та рівень лактату. Їх визначення проводили за допомогою газоаналізатора крові ABL800FLEX («Radiometer», Данія) згідно з інструкцією з використання приладу.

Статистичну обробку даних проводили за допомогою стандартних методик. Для визначення достовірності результатів використовували коефіцієнт Ст'юдента *t*.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У ході проведених досліджень встановлено, що у тварин з резистентними до хіміотерапії пухлинами рН крові не відрізнявся від такого показника у щурів з чутливою пухлиною та інтактних щурів. Також не зафіксовано відмінностей між експериментальними групами стосовно показника рCO<sub>2</sub>. Проте парціальний тиск кисню (рO<sub>2</sub>) у периферичній крові тварин з резистентними до цитостатиків пухлинами був статистично достовірно нижчим (р < 0,05), ніж у щурів з чутливими пухлинами. Так, у щурів з резистентною до цисплатину карциною Герена показник рO<sub>2</sub> був нижчим на 13,0% (табл. 1), а у тварин з резистентною до доксорубіцину карциносаркомою Walker-256 — на 14,0% (табл. 2), при порівнянні з відповідними показниками в чутливих новоутвореннях. Рівень лактату в периферичній крові тварин з пухлинами незалежно від їх чутливості до цитостати-

ка був достовірно вищим порівняно з показниками інтактних щурів.

Таблиця 1  
Парціальний тиск газів та рівень лактату у периферичній крові щурів з чутливою та резистентною до цисплатину карциною Герена

Група тварин	рН	Парціальний тиск, мм рт. ст.		Рівень лактату, мМоль/л
		рO <sub>2</sub>	рCO <sub>2</sub>	
Інтактні тварини (n=10)	7,40 ± 0,20	65,8 ± 1,7	33,9 ± 4,0	5,6 ± 0,4
Чутлива до цисплатину карцинома Герена (n=10)	7,36 ± 0,20	55,1 ± 1,8*	38,0 ± 3,0	6,7 ± 0,2*
Резистентна до цисплатину карцинома Герена (n=10)	7,35 ± 0,40	48,0 ± 1,8**/**	39,0 ± 3,0	7,0 ± 0,2*

Примітки: \*р < 0,05 порівняно з показниками інтактних тварин;

\*\*р < 0,05 порівняно з показниками щурів з чутливою пухлиною та інтактними тваринами.

Таблиця 2  
Парціальний тиск газів та рівень лактату в крові щурів з чутливою та резистентною до доксорубіцину карциносаркомою Walker-256

Група тварин	рН	Парціальний тиск, мм рт. ст.		Рівень лактату, мМоль/л
		рO <sub>2</sub>	рCO <sub>2</sub>	
Інтактні тварини (n=10)	7,36 ± 0,30	63,3 ± 2,0	37,8 ± 1,4	5,0 ± 0,4
Чутлива до доксорубіцину карциносаркома Walker-256 (n=10)	7,32 ± 0,12	55,8 ± 1,4*	42,00 ± 3,0	6,5 ± 0,3*
Резистентна до доксорубіцину карциносаркома Walker-256 (n=10)	7,30 ± 0,20	47,9 ± 1,5**/**	44,7 ± 3,5	7,2 ± 0,5*

Примітки: \*р < 0,05 порівняно з показниками інтактних тварин;

\*\*р < 0,05 порівняно з показниками щурів з чутливою пухлиною та інтактними тваринами.

Відомо, що рO<sub>2</sub> — це парціальний тиск кисню у газовій фазі, яка знаходиться у рівновазі з кров'ю та головним чином відображає поглинання кисню в легенях. рO<sub>2</sub> відображає лише невелику частину (1,0–2,0%) всього кисню крові, який розчинений у плазмі. Значно більша кількість кисню (98,0–99,0%) зв'язана з гемоглобіном в еритроцитах. Тобто рO<sub>2</sub> є головним параметром для оцінки адекватності оксигенації крові. Яким би не був механізм гіпоксії, у складних ситуаціях вона може призвести до аноксії (повного порушення доставки кисню).

Лактат — аніон молочної кислоти, внутрішньоклітинного продукту метаболізму глюкози. Відомо, що перетворення глюкози на піруват відбувається шляхом 13 послідовних ферментативних реакцій (процес гліколізу). При нормальній оксигенації клітин піруват дифундує в мітохондрії і метаболізується в циклі лимонної кислоти та окисного фосфорилування до CO<sub>2</sub> та H<sub>2</sub>O. При цьому одночасно відбувається синтез аденозинтрифосфату, головного джерела енергії в організмі. Рівень лактату відображає рівновагу між швидкістю надходження лактату в кров з еритроцитів та інших

клітин і швидкістю видалення лактату з крові. Тобто лактат слугує маркером дисбалансу між потребою клітин (тканин) у кисні та його доставкою. Підвищення рівня лактату в суцільній крові є раннім чутливим індикатором порушення оксигенації клітин.

Продемонстровані в наших дослідженнях суттєві відмінності показників парціального тиску кисню та рівнів лактату в периферичній крові між тваринами з чутливими та резистентними до хіміотерапії пухлинами, можливо, є наслідком вищої злоякісності нечутливих до медикаментозної терапії новоутворень у порівнянні з чутливими. Вищевикладене вказує на те, що рівні  $pO_2$  та лактату в периферичній крові є важливими загальними прогностичними показниками оксигенації та стану організму і за умови розвитку злоякісного процесу.

## ВИСНОВКИ

1. Показники рН крові та парціального тиску  $CO_2$  у тварин з резистентними до цитостатиків пухлинами не відрізнялися від таких у щурів з чутливими пухлинами та інтактних тварин.

2. Встановлено, що у щурів з резистентними до цитостатиків пухлинами парціальний тиск кисню у крові достовірно нижчий, ніж у щурів з чутливими пухлинами та інтактних тварин.

3. Виявлено, що рівень лактату в суцільній крові тварин з резистентними новоутвореннями достовірно вищий за показники інтактних щурів.

4. Різниця в досліджуваних показниках ( $pO_2$  та рівень лактату) між тваринами з чутливими та резистентними до хіміотерапії пухлинами вірогідно зумовлена більшою злоякісністю нечутливих до медикаментозної терапії новоутворень у порівнянні з чутливими.

5. Встановлено, що резистентні до медикаментозної терапії пухлини зумовлюють більш негативний вплив на оксигенацію організму, ніж чутливі.

Робота виконувалася в рамках НДР «Молекулярно-біологічні фактори гетерогенності злоякісних клітин та варіабельність клінічного перебігу гормонозалежних пухлин» (0117U002034) за фінансової підтримки Цільової програми наукових досліджень Відділення біохімії, фізіології і молекулярної біології Національної академії наук України «Молекулярно-генетичні і біохімічні механізми регуляції клітинних та системних взаємодій за фізіологічних та патологічних станів» (2017–2021).

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Lundholm K, Sylund A, Holm G. Skeletal muscle metabolism in patients with malignant tumor. *Eur J Cancer* 1976; 12 (6): 465–73.
2. Waterhouse C. Lactate metabolism in patients with cancer. *Cancer* 1974; 33 (1): 66–71.
3. Weber G, Kizaki H, Shiotani T. Biochemical strategy of hepatomas. *J Toxicol Environ Health* 1979; 5 (2–3): 371–86.
4. Rundqvist H, Johnson RS. Tumour oxygenation: implications for breast cancer prognosis. *J Intern Med* 2013; 274: 105–11.
5. Muz B, de la Puente P, Azab F. The role of hypoxia in cancer progression, angiogenesis, metastasis, and resistance to therapy. *Hypoxia* 2015; 3: 83–92.

6. Bertout JA, Patel SA, Simon MS. The impact of  $O_2$  availability on human cancer. *Nat Rev Cancer* 2008; 8 (12): 467–75.

7. Sorensen BS, Horsman MR. Tumor hypoxia: impact on radiation therapy and molecular pathways. *Front Oncol* 2020; 10: 562. doi:10.3389/2020.00562.

8. Cao X, Allu RS, Jiang S, et al. Tissue  $pO_2$  distributions in xenograft tumors dynamically imaged by Cherenkov-excited phosphorescence during fractionated radiation therapy. *Nature Com* 2020; 11: 573. doi.org/10.1038/s41467-020-14415-9.

9. Barcellos-Hoff MH, Nguyen DH. Radiation carcinogenesis in context: how do irradiated tissues become tumors? *Health Phys* 2009; 97 (5): 446–57. doi:10.1097/HP.0b.013e3181b08a10.

## PARTIAL PRESSURE OF GASES AND LACTATE LEVEL IN RATS BLOOD WITH SENSITIVE AND DRUG-RESISTANT MALIGNANT TUMORS

I.M. Todor

R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

**Summary. Aim:** determination of partial pressure of gases and lactate level in the blood of the rats with sensitive and cytostatic-resistant malignant tumors. **Objects and methods:** the study was carried out in Wistar female rats weighed 230–250 g. The rats were inoculated subcutaneously with sensitive and cisplatin-resistant Guerin carcinoma and sensitive and doxorubicin-resistant carcinosarcoma Walker-256. pH,  $pO_2$ ,  $pCO_2$  and lactate level were determined in the whole blood at exponential growth (the 9<sup>th</sup> day after carcinosarcoma Walker-256 and the 13<sup>th</sup> day after Guerin carcinoma inoculation). The determination of these indicators was carried out using blood gas system ABL800 FLEX («Radiometer», Denmark). For the data statistical analysis Student's coefficient was used. **Results** the pH and  $pCO_2$  in the blood of the animals with resistant tumors doesn't differ from the one of the rats either with a sensitive tumor or of the intact rats. Nonetheless,  $pO_2$  in the blood of the animals with the resistant tumors was statistically lower comparing to the rats with the sensitive tumor. The lactate level in the blood of the animals with the tumor (either sensitive or resistant) was higher comparing to the intact rats. The identified patterns were the same for both experimental models of tumor growth. **Conclusion:** drug-resistant tumors cause more negative influence on the organism oxygenation.

**Key Words:** tumor, blood gases, partial pressure, lactate level, drug resistance.

Адреса для листування:

Тодор І.М.

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

03022, Київ, вул. Васильківська, 45

E-mail: igor\_todor@ukr.net

Одержано: 29.09.2021