

10. Б е л е н ь к и й М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Рига, 1959.
11. А л е к с е е в а О. Г., П е т к е в и ч А. И.//Гигиена и санитария. 1972. № 3. С. 64.
12. Методы определения токсичности и опасности химических веществ/Под ред. И. В. Саноцкого. М., 1970.
13. Биохимические, иммунологические и биофизические методы в токсикологическом эксперименте: Методическое руководство/Под ред. У. А. Кузьминской. Киев, 1989.
14. С и д о р о в К. К.//Токсикология новых промышл. химич. веществ. Л., 1973. Вып. 13. С. 47.
15. Проблемы, нормы в токсикологии, современные представления и методические подходы, основные параметры и константы/Под ред. И. М. Трахтенберга. М., 1991.
16. П л а т з Н. А., В а с и л ь е в Е. А. Физиологически активные полимеры. М., 1986.

УДК 577.391 + 616.006

М. Ф. КУКУЛЯНСКАЯ, И. П. ХРИПЧЕНКО, А. Т. ПИКУЛЕВ

АКТИВНОСТЬ ГЕКСОКИНАЗЫ И УРОВЕНЬ ПИРИДОКСАЛЕВЫХ КОФЕРМЕНТОВ В САРКОМЕ М1 И КАРЦИНОСАРКОМЕ УОКЕРА ПРИ КОМБИНИРОВАННЫХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ НА ОПУХОЛЬ

В настоящее время возрастает интерес к веществам или воздействиям, которые усиливают противоопухолевую активность химиопрепаратов. Применение таких модификаторов чувствительности опухолей, как гипергликемия и гипертермия на фоне цитостатических препаратов дает возможность установить предпочтительные сочетания воздействий, приводящих к снижению интенсивности метаболических процессов и регрессии опухоли.

В связи с этим нами было проведено изучение активности гексокиназы (ГК 2.7.1.1 КФ), обеспечивающей включение глюкозы в гликолиз, т. е. показателя интенсивности энергетических процессов в опухоли и уровня фосфорилированных форм витамина В₆ (пиридоксальфосфата – ПАЛФ и пиридоксаминфосфата – ПАМФ), которые обеспечивают метаболические реакции коферментами, в саркоме М1 и карциносаркоме Уокера-256. Исследования проводили при комплексном воздействии на организм опухоленосителя цитостатика, гипергликемии и СВЧ-гипертермии в различной последовательности.

Материал и методика

Эксперимент выполнен на беспородных белых крысах обоего пола массой 120–150 г. Перевивку опухолей штаммов саркомы М1 и карциносарком Уокера-256 осуществляли подкожным введением в паховую область 1,5 мл 20 % взвеси опухолевых клеток в 0,9 %-ом растворе NaCl.

На 7-е сут (карциносаркома Уокера) или на 12-е (саркома М1) после трансплантации опухоли в условиях нейролептоанальгезии (внутримышечное введение смеси дроперидол и фентанил 2:1 в количестве 0,3 мл на 100 г массы) начинали воздействия [1].

Из цитостатических препаратов использовали циклофосфан, относящийся к группе алкилирующих агентов, и адриабластин – антрациклиновый антибиотик. Циклофосфан вводили внутримышечно из расчета 80 мг/кг массы, а адриабластин – внутривенно: 5 мг/кг массы животного.

Гипергликемию вызывали внутрибрюшинным введением глюкозы в виде 40 % раствора из расчета 6 г/кг массы.

Сеанс локальной СВЧ-гипертермии проводили на установке «Парус» при температуре +42 °С в течение 30 мин. Частота электромагнитного излучения 2400 МГц (λ – 12,6 см).

В опыт животные брались через сутки после последнего воздействия. Подготовку тканей к исследованиям проводили по описанным ранее методам [1]. Использовали надосадочную жидкость (гиалоплазма + микросомы) и митохондрии.

Активность гексокиназы определяли по [2], содержание пиридоксальных коферментов по [3]. Все результаты подвергались статистической обработке [4] с оценкой достоверности изменений.

Результаты и их обсуждение

Судя по данным, представленным на рис. 1а, чувствительность исследованных штаммов опухолей к цитостатикам различалась. Так, циклофосфан оказался более мощным по сравнению с адриабластином — агентом, снижающим гексокиназную активность в опухоли карциносаркома Уокера-256 и саркома М1. В то же время адриабластин вызывал лишь незначительное (на 10–20 %) снижение активности фермента в карциносаркоме, а в саркоме М1 сильно активировал гексокиназу: до 304 % в надосадочной жидкости и на 508 % в митохондриях.

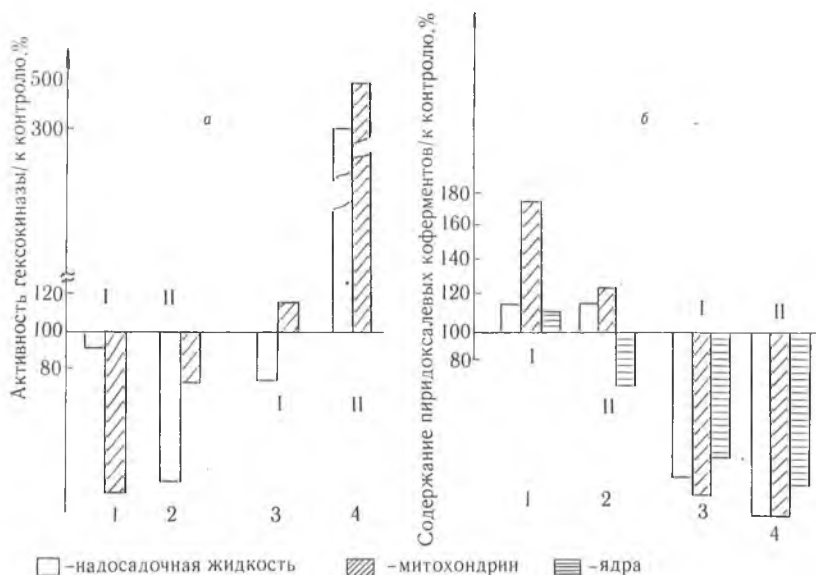


Рис. 1. Активность гексокиназы (а) и содержание пиридоксальных коферментов (б) в саркоме М1 (I) и карциносаркоме Уокера (II) при введении циклофосфана (1, 2) и адриабластина (3, 4)

Использование цитостатиков в онкотерапии направлено на создание условий для регрессии опухоли, хотя механизм действия препаратов различен: циклофосфан, предположительно, нарушает каталитическую активность гексокиназы из-за алкилирования SH-групп фермента [5], тогда как адриабластин, повреждая генетический аппарат клетки [6], приводит к нарушению синтеза фермента. Вместе с тем циклофосфан может вызвать увеличение гипоксической фракции опухоли и интенсификацию гликолиза, несмотря на падение активности гексокиназы [7].

Количество пиридоксальных коферментов в опухоли Уокер-256 в целом снижалось при действии данных цитостатиков (рис. 1, б). Вместе с тем в саркоме М1 при действии циклофосфана несколько возрастал уровень ПАЛФ и ПАМФ, а при введении адриабластина существенных изменений содержания этих коферментов в данной опухоли не выявлено, т. е. конечный эффект действия противоопухолевого препарата оказался зависимым от штамма опухоли, особенностей ее метаболизма и взаимоотношений с организмом опухоленосителя. Поддержание нормогликемии осуществляется, вероятно, путем новообразования глюкозы из углеродного скелета глюкостероидных аминокислот [6], и здесь важно участие ПАЛФ и ПАМФ. Опухоль зачастую более успешно конкурирует с тканями за важнейшие соединения и переключает биосинтетические процессы на более энергетически выгодные пути для метаболизма новообразования. Таким образом, поддержание достаточно высокого

уровня ПАЛФ и ПАМФ при гипергликемии с гипертермией на фоне адриабластина при усилении гексокиназы в саркоме М1 позволяет сохранить опухоли достаточно интенсивный рост.

Проведение гипергликемии и гипертермии на фоне цитостатиков (рис. 2) в одинаковой степени снижало уровень коферментов в карциносаркоме Уокера независимо от последовательности проведения воздействий. В результате жизнедеятельность опухоли угнеталась.

В саркоме М1 некоторое увеличение содержания ПАЛФ и ПАМФ наблюдалось лишь при гипергликемии, предшествовавшей гипертермии на фоне адриабластина (см. рис. 2). В остальных случаях количество коферментов снижалось. Вероятно, при совместном воздействии гипергликемии и гипертермии уменьшается роль опухоли как «ловушки» метаболитов [7], что позволяет другим тканям опухоленосителя, например мозгу, повышать уровень ПАЛФ и ПАМФ [8].

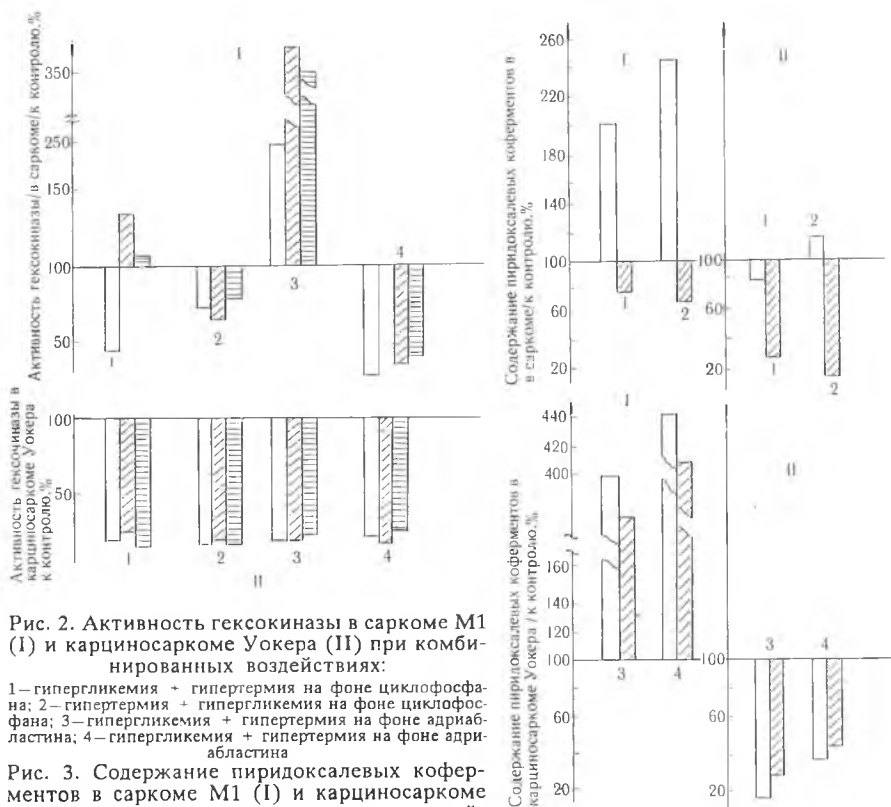


Рис. 2. Активность гексокиназы в саркоме М1 (I) и карциносаркоме Уокера (II) при комбинированных воздействиях:

1—гипергликемия + гипертермия на фоне циклофосфана; 2—гипергликемия + гипертермия на фоне циклофосфана; 3—гипергликемия + гипертермия на фоне адриабластина; 4—гипергликемия + гипертермия на фоне адриабластина

Рис. 3. Содержание пиридоксальных коферментов в саркоме М1 (I) и карциносаркоме Уокера (II) при комбинированных воздействиях:

1—гипергликемия + гипертермия на фоне циклофосфана; 2—гипергликемия + гипертермия на фоне циклофосфана; 3—гипергликемия + гипертермия на фоне адриабластина; 4—гипергликемия + гипертермия на фоне адриабластина

Характер изменений гексокиназной активности при проведении гипергликемии и гипертермии в различной последовательности на фоне цитостатиков зависел от штамма опухоли. Например, в саркоме М1 (рис. 3) на фоне адриабластина сохранялась резко (в 2–3 раза) увеличенная активность гексокиназы в обеих фракциях, тогда как в карциносаркоме Уокера происходило ингибирование гексокиназы, активность которой составляла лишь 10–20 % от исходного уровня.

На фоне циклофосфана эти воздействия лишь в карциносаркоме вызвали снижение активности фермента на 60–70 %, а в саркоме М1 в этих условиях наблюдалось возрастание активности в 2–2,5 раза.

Таким образом, наиболее эффективным в терапии опухолей, судя по скорости гексокиназной реакции и уровня фосфорилированных форм витамина В₆, явилось проведение на фоне цитостатика комплексных воздействий СВЧ-гипертермии, а затем гипергликемии, чувствительность к которой у данной опухоли повышена [5]. Проведенные нами иссле-

дования свидетельствуют об изменении в перевиваемых опухолях крыс ряда биохимических показателей при действии цитостатиков и усиливающих их эффект гипертермии и гипергликемии, причем только в карциносаркоме Уокера эти воздействия приводят к значительному снижению изученных показателей, что может способствовать регрессии опухоли.

Список литературы

1. Куккулянская М. Ф., Хрипченко И. П., Корженевская Т. М. // Вестн. Белорус. ун-та. Сер. 2: Хим. Биол. Геогр. 1988. № 1. С. 327.
2. Long O. // Journ. Biol. Chem. 1951. V. 193. P. 265.
3. Горячкова Е. В. и др. // Биохимия. 1983. Т. 28. № 3. С. 565.
4. Рокицкий П. Ф. // Биологическая статистика. Мн., 1973.
5. Кулик Г. И. // Вопр. онкологии. 1989. № 7. С. 778.
6. Переводчикова Н. И., Горбунова В. А. // Вестн. АМН СССР. 1976. № 2. С. 67.
7. Чернов В. А. Методы экспериментальной химиотерапии. М., 1981. С. 357.
8. Блинова В. А., Шапот В. С. // Вопр. онкологии. 1974. № 12. С. 60.

УДК 577.391

Т. Н. ЗЫРЯНОВА, В. М. ЛАВРОВА, А. Т. ПИКУЛЕВ

ВЛИЯНИЕ БЕНЗИДИНА И *o*-ТОЛИДИНА НА АКТИВНОСТЬ АСПАРТАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ И ГЛУТАМАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ В ТКАНЯХ КРЫС

Бензидин (БД) и его производное 3,3'-диметилбензидин (ДМБД) относятся к непрямые канцерогены и для проявления своего эффекта требуют метаболической активации, сопровождающейся образованием химически активных соединений, которые вызывают модификацию биохимических процессов в организме, ведущих к возникновению раковых заболеваний.

В связи с этим в настоящей работе проведено изучение активности основных ферментов обмена глутаминовой кислоты – аспаратаминотрансферазы (АСТ, КФ 2.6.1.1) и глутаматдегидрогеназы (ГДГ, КФ 1.4.1.3), обеспечивающих сопряжение углеводного и азотистого обменов, что определяет несомненную важность исследования этих показателей в головном мозге и печени крыс при введении аминобифенилов.

Материал и методика

Эксперименты проведены на беспородных крысах массой 130 – 180 г, содержащихся на стандартном рационе вивария. Первую группу экспериментальных животных составили крысы, которым внутрижелудочно вводили 0,9 % NaCl (контроль). Второй группе животных вводили БД в виде суспензии в 0,9 % NaCl в дозе 100 мг/кг массы животного (1/16 ЛД₅₀) [1]. Третью группу составили крысы, получавшие БД в дозе 400 мг/кг однократно (1/4 ЛД₅₀). Животным четвертой группы БД вводили в течение 4-х дней, суммарная доза составила 400 мг/кг. Пятую, шестую и седьмую группы составили животные, которым вводили ДМБД. Условия введения и дозы те же, что и для бензидаина. Активность АСТ и ГДГ в субклеточных фракциях головного мозга и печени крыс определяли с помощью методик, описанных ранее [2], и рассчитывали на 1 мг белка, который определяли по Лоури [3]. Полученные экспериментальные данные обрабатывали статистически.

Результаты и их обсуждение

Как видно из рис. 1, однократное введение БД в дозе 100 мг/кг вызывало увеличение активности цитоплазматической (ц-) и снижение митохондриальной (м-) АСТ в головном мозге крыс. Увеличение дозы БД до 400 мг/кг приводило к активации скорости реакции трансаминирования с L-аспартата на α-оксоглутаровую кислоту в обеих фракциях. Это же количество БД, но введенное по 100 мг/кг в течение 4-х дней, не выявило достоверных изменений в активности изоферментов АСТ.