



УДК 577.391-619.006

М. Ф. КУКУЛЯНСКАЯ, И. П. ХРИПЧЕНКО, Т. М. КОРЖЕНЕВСКАЯ

ВЛИЯНИЕ РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ И СВЧ ГИПЕРТЕРМИИ НА АКТИВНОСТЬ ГЕКСОКИНАЗЫ САРКОМЫ 45

Биохимические аспекты действия таких сенситизаторов опухоли, как гипертермия, гипергликемия, изучены недостаточно. Учитывая особую важность углеводного обмена для роста опухоли [1], мы изучали активность узлового фермента гликолиза — гексокиназы (ГК, 2.7.1.1 КФ) в саркоме 45 крыс на различных сроках после СВЧ гипертермии в сочетании с локальным рентгеновским облучением опухоли.

Материал и методика

Исследования проведены на беспородных крысах самцах массой 150—200 г. Перевивку опухолевого штамма саркомы 45 осуществляли по известной методике [2]. Схема эксперимента разработана в НИИ онкологии и медицинской радиологии МЗ БССР. На 12-й день крыс-опухоленосителей подвергали локальному (в область саркомы) рентгеновскому облучению в дозе 20 Гр на установке РУМ-11 при напряжении 200 кВ, силе тока 20 мА, фильтре 3 мм Al, мощности экспозиционной дозы 0,6 Гр/мин. Локальная СВЧ гипертермия проводилась в течение 30 мин при +42 °С. Кроме того, животных облучали на фоне гипертермии; декапитировали через 6, 18, 24, 48 и 120 ч после последнего воздействия. За 20 мин до облучения крыс наркотизировали путем подкожного введения смеси дроперидол-фентанин (2 : 1) в дозе 0,3 мл на 1 кг массы.

Субклеточные фракции выделяли методом дифференциального центрифугирования. Активность ГК определяли по [3].

Состояние опухоли контролировали в основном морфологически, функциональную оценку ее вели по активности ацетилхолинэстеразы (3.1.1.7 КФ), которую определяли методом [4], а белок — по Лоури.

Полученные данные обработаны статистически [5] и представлены на рис. 1, 2 в процентах к уровню у наркотизированных опухоленосителей, принятому за 100 %, так как наркотическое воздействие практически не влияло на определяемые показатели [6].

Результаты и их обсуждение

Опухолевый штамм саркомы 45 занимает среднее положение в ряду опухолей по радио- и термочувствительности. В процессе многократной перевивки соединительнотканная саркома меняет свою чувствительность, воздействуя на механизмы, участвующие в реализации радиационного поражения [7].

Локальное облучение саркомы рентгеновскими лучами в дозе 20 Гр (см. рис. 1, а) привело к значительным изменениям активности гексо-

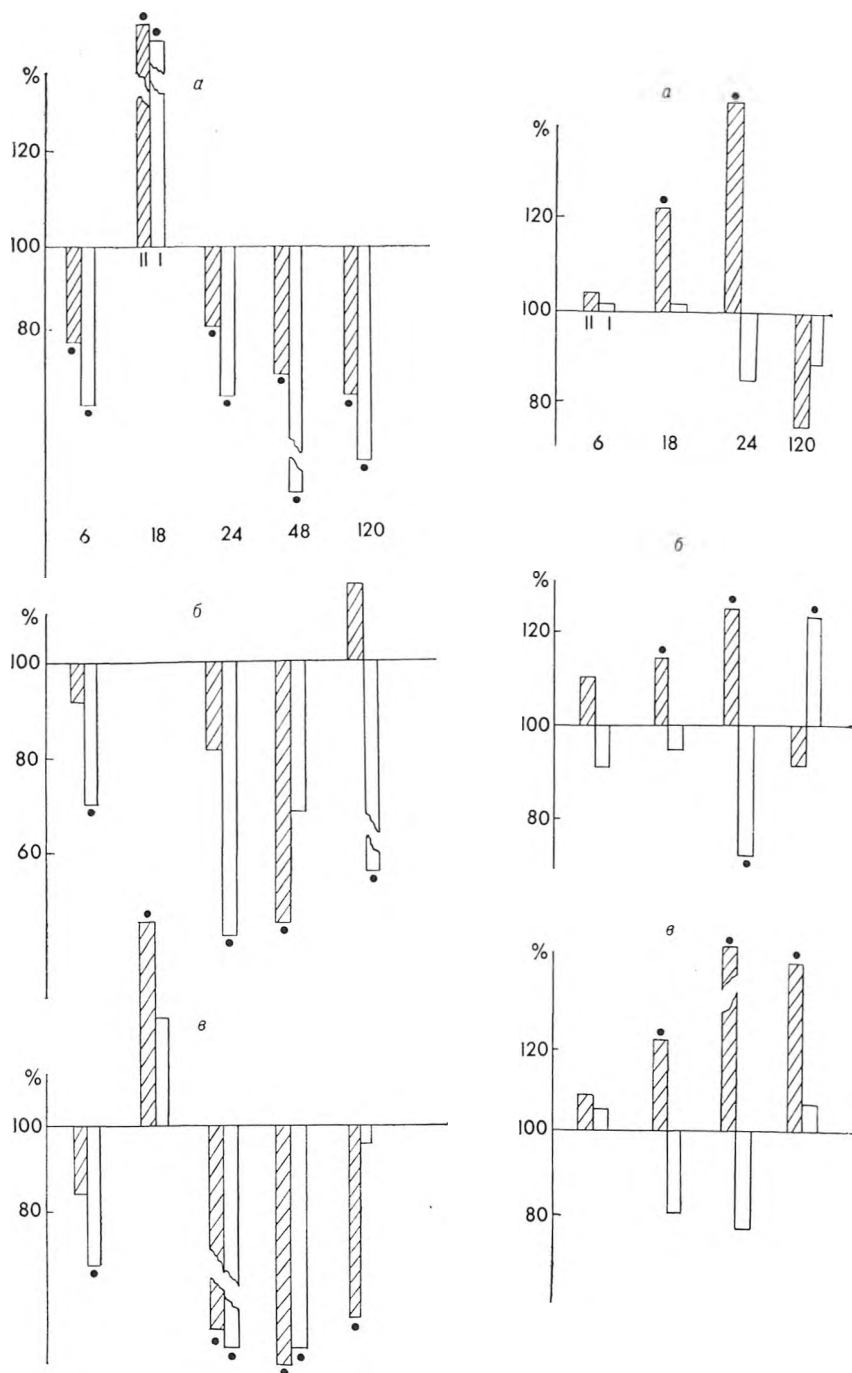


Рис. 1. Изменение активности гексокиназы в саркоме 45 крыс-опухоленосителей на различных сроках после облучения в дозе 20 Гр (а), СВЧ гипертермии (б), облучения и гипертермии (в); ● — достоверные данные

Рис. 2. Изменение активности ацетилхолинэстеразы в саркоме 45 крыс-опухоленосителей (условия эксперимента см. рис. 1)

киназы на разных сроках после воздействия: и в надосадочной жидкости, и в митохондриях происходили однонаправленные сдвиги, заключающиеся в торможении активности через 6 ч после рентгенотерапии до 16—32 % соответственно. Однако через 18 ч активность гексокиназы резко возрастала, достигая от исходного уровня в митохондриях 226 % и 146 % в надосадочной жидкости (см. рис. 1, а). Важную роль в акти-

визации гексокиназы, вероятно, играет нарушение регуляции активности фермента, связанное с изменением взаимодействия фермента и клеточных структур [8], а также с выявленными у онкологических больных животных изменениями гормонального фона после локального рентгеновского облучения [19]. К концу первых суток и в последующем происходит падение активности фермента на 41—54 % в надосадочной жидкости и 26—36 % в митохондриях.

Эти данные полностью согласуются с результатами работы [10], свидетельствующими о снижении общей активности гексокиназы на 24 % у онкологических больных после лучевой терапии. К 120 ч после воздействия рентгеновских лучей происходит дальнейшее понижение уровня гексокиназной активности в саркоме 45: на 33 % в митохондриях и почти на 60 % в надосадочной жидкости. Снижение выработки энергии гликолитическим путем в тканях опухоли на разных сроках после лучевой терапии отмечено рядом авторов [11].

Изменения, выявленные нами в активности ГК, могут быть связаны и с угнетением митотической активности опухоли под влиянием радиации [12], и накоплением *SH*-групп в белках, что способствует регрессии опухоли.

В настоящее время большое внимание уделяется вопросам модификации радиационной реакции злокачественных и нормальных тканей и клеток. Такие воздействия, как гипербарическая оксигенация, гипертермия, гипергликемия создают условия, обеспечивающие максимальный повреждающий эффект облучения на опухоль и минимальный — на окружающие нормальные ткани. Поскольку в опухолях обычно наблюдаются дефекты сосудистой системы, способствующие развитию гипоксических клеток, радиочувствительность таких клеток следует повысить. Установлено [13], например, что умеренная гипертермия ($+42—+43^{\circ}\text{C}$) подавляет процессы восстановления даже в радиорезистентных клетках. Кроме того, если комбинировать гипертермию и облучение, можно преодолеть затруднения, связанные с различной чувствительностью опухолевых клеток к повреждающим факторам в разные периоды клеточного цикла.

На всех сроках исследования, проведенного после гипертермии, нами обнаружено угнетение активности ГК в цитоплазме и митохондриях опухолевых клеток саркомы 45, а в митохондриях к концу пятых суток таковая превышает исходный уровень на 18 % (см. рис. 1, б).

Таким образом, действие СВЧ гипертермии приводило к отмеченному многими исследователями снижению ферментативной активности и гликолиза в целом [14]. По-видимому, происходит также активизация работы системы гипофиз — надпочечники — щитовидная железа [9]. Эти явления происходят на уровне организма, тогда как в опухоли искусственная СВЧ гипертермия ведет к накоплению органических кислот, сдвигает рН в кислую сторону, и активизация ферментативной активности на этом фоне вызывает гибель клеток.

Действительно, активация, в первую очередь, лизосомальных ферментов [15] и изменения мембран при действии повышенных температур приводят к гибели опухоли, и гипертермия может быть весьма эффективна как сенситизатор при лучевой терапии.

Судя по изменениям гексокиназной активности, выявленным нами в саркоме 45, можно заключить, что сочетание гипертермии и облучения не вызывает существенного изменения характера сдвигов активности ГК: сохраняется та же направленность, что и при «чистом» облучении. Необходимо отметить лишь снижение активности ГК в митохондриях на 42 % через 120 ч после воздействий (см. рис. 1, а). Кроме того, нами выявлено значительное увеличение медиаторной чувствительности опухоли на всех сроках исследования, которая, судя по уровню ацетилхолинэстеразной активности, резко возрастала в митохондриях через сутки после отдельного и сочетанного воздействия на саркому рентгеновскими лучами и СВЧ гипертермией. Можно полагать, что со-

храняется, особенно на периферии, способность к опухолевому росту (см. рис. 2).

Таким образом, на основании изучения общей активности гексокиназы в саркоме 45 мы не можем утверждать, что СВЧ гипертермия оказала существенное модифицирующее действие и отразилась на радиационных изменениях скорости фосфорилирования глюкозы. Вероятно, установленное резкое увеличение гексокиназной активности (18 ч) связано с высокой чувствительностью термостабильного изофермента к развивающемуся ацидозу и, таким образом, опухоль обеспечивает поддержание достаточно высокого уровня гликолиза для собственного энергообеспечения. Однако в отдаленные от терапевтических воздействий сроки (с первых по пятье сутки) гексокиназная активность падает и гликолитические процессы оказываются неэффективными.

Список литературы

1. Шапот В. С. Биохимические аспекты опухолевого роста. М., 1975.
2. Чернов В. А. Методы экспериментальной химиотерапии. М., 1971. С. 357.
3. Long O. // Journ. Biol. Chem. 1951. V. 193. P. 265.
4. Hestrin S. Ibidem. 1949. V. 180. № 1. P. 249.
5. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. Минск, 1973.
6. Кукулянская М. Ф., Мохорева С. И. и др. // Науч. техн. прогресс в мед. и биохим. Киев, 1985. Ч. 1. С. 125.
7. Холли В. В. Радиобиологические аспекты лучевой терапии злокачественных опухолей. М., 1979.
8. Данцевич В. М. Первичные и начальные процессы биологического действия радиации. М., 1972. С. 195.
9. Верещагина Г. В., Харченко В. П. и др. Радиобиологические основы лучевой терапии. Л., 1980. Ч. 1. С. 30.
10. Бергут Ф. А., Соколова И. И. и др. Гипербарическая оксигенация. М., 1975. С. 19.
11. Деркачев Э. Ф. // Биоэнергетика при лучевом поражении живых организмов. Л., 1973. С. 137.
12. Геринштейн И. Г., Колесникова Г. С., Дедух Н. В. // Экспериментальная и клиническая радиология. Киев, 1977. Вып. 12. С. 79.
13. Жарбин Е. А., Хансон К. П. и др. Радиобиологические основы лучевой терапии. Л., 1980. Ч. 2. С. 11.
14. Storm F., Morton D. // Cancer. 1983. V. 33. № 1. P. 44.
15. Волков Е. И., Полежаев А. А. // Успехи современ. биол. 1983. Т. 96. № 3(6). С. 353.

УДК 574.583

С. А. БОЙКОВА

ЗООПЛАНКТОН ОЗЕР, ПОДВЕРЖЕННЫХ АНТРОПОГЕННУМУ ЭВТРОФИРОВАНИЮ

Исследования реакции зоопланктонного сообщества на антропогенное воздействие проводили на четырех эвтрофных водоемах с различными биогенными нагрузками: оз. Медведно, Потех и Ильменок (Браславский), Забельское (Глубокский район Витебской области). Минимальной внешней фосфорной нагрузкой характеризуется небольшое лесное оз. Медведно, максимальной — мелководное гиперэвтрофное оз. Забельское, на берегу которого расположена птицеферма (табл. 1).

В основе материалов лежат трехразовые летние сборы на водоемах Медведно, Потех, Ильменок в 1981—1983 гг. и одно-двухразовые на оз. Забельское в 1975, 1977—1980 гг. Пробы отбирали 10-литровым планктоночерпачком Вовка (снго № 70), качественные — цеппелиновой сетью и сетью Апштейна. Обработано 260 качественных и количественных проб.

Зоопланктонное сообщество оценивали по количеству видов, видовому составу, структурному соотношению групп, количественному развитию. Видовой состав рассматривали только в группе ветвистоусых рачков и коловраток, так как при обработке количественных проб неко-