

жания витаминов А и Е определяет способность клеток к апоптозу, а их недостаток, что и показано в нашем исследовании ткани без лечения, снижает уровень апоптоза вплоть до его отмены. Определена роль окислительного стресса в механизмах апоптоза. Полученные нами результаты изучения свободнорадикальных процессов и антиокислительной защиты в ткани меланомы кожи и ее перифокальной зоны до проведения химиотерапии свидетельствуют о нарушении процесса апоптоза и вместе с тем указывают, что паратуморальная химиотерапия восстанавливает нарушенный процесс апоптоза в перифокальной зоне опухоли. При этом сохраняется высокая активность фосфономонераз, и хотя не полностью восстанавливается тип энергетических процессов, характерных для оксигенированных тканей, однако отмечается унификация показателей энергообеспечения в опухолевой ткани и ее перифокальной зоне. Это, прежде всего, способствует восстановлению межклеточных контактов и ослаблению действия секретируемых опухолью продуктов, среди которых особого внимания заслуживают различные факторы роста (эпидермальный и др.) Эти факторы и вызывают отдельные признаки опухолевого фенотипа, исчезающие в случае прекращения их продукции.

Литература

1. Князева М.В., Павлова Т.Д., Карташов С.М. // Эксперим. онкол. 2000. № 22. С. 280.
2. Барабой В.А., Зинченко В.А. // Журн. Акад. мед. наук України. 1999. Т. 5. № 3. С. 453–469.
3. Короткина Р.Н. и др. // Рос. онкол. журн. 1999. № 2. С. 21–24.
4. Frommel T.O., Zarling E.J. // Med. Hypotheses. 1999. Vol. 52. № 1. С. 27–30.
5. Beauchamp C., Fridovich I. // Anal. Biochem. 1971. Vol. 44. Р. 276–281.
6. Королюк М.А. и др. // Лаб. дело. 1988. № 1. С. 16–18.
7. Покровский А.А. Биохимические методы исследования в клинике. М., 1969. С. 349–351.
8. Внуков В.В. Железосодержащие белки и протеолитическая активность в сыворотке крови при гипероксии и защитном действии мочевины: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Харьков, 1979.
9. Чернаускене Р.Ч., Варишквичене З.З., Грибаускас П.С. // Лаб. дело. 1984. № 6. С. 362–365.
10. Пальмина Н.П. // Свободные радикалы и антиоксиданты в химии и биологии: Юбилейная конф., посвященная 85-летию академика Н.М. Эммануэля. Москва, 29 сент., 2–4 окт. М., 2000. С. 127–130.
11. Черезов А.Е. Общая теория рака: тканевой подход. М., 1997.
12. Ивашкин В.Т., Васильев В.Ю., Северин Е.С. Уровни регуляции функциональной активности органов и тканей. Л., 1987.
13. Лю Б.Н. Старение, возрастные патологии и канцерогенез (кислородно-перекисная концепция). Алматы, 2003.
14. Bhattacharyya P.C. // Curr. Sci. (India). 1996. Vol. 71. № 7. P. 501–501.

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт

2 ноября 2006 г.

УДК 001.5:615.7:612.1:616.24-089

ИЗМЕНЕНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ МОЗГА НА ЭТАПАХ ХИМИЧЕСКОГО КАНЦЕРОГЕНЕЗА

© 2006 г. Е.М. Францияни, Т.И. Кучерова, В.А. Бандовкина, Ю.А. Позорелова

Antioxidant and monoaminergic systems of brain of rats at early stages of chemical carcinogenesis (1-st, 5-th and 9- th weeks) have been studied. The most pronounced changes in the brain of experimental animals have been observed at the 1-st week of carcinogenesis. It has been supposed that already at early stages of carcinogenesis there occur general moments of tumor metabolism which may be preconditions for translocation of tumors cells into brain.

В настоящее время нередким проявлением первичной опухоли являются метастазы в мозг. Статистические данные о частоте встречаемости метастатических опухолей головного мозга противоречивы и составляют от 20 до 50 %. Однако по данным аутопсий число метастазов в мозг значительно больше и достигает 70 % [1]. Раннее выявление и прогнозирование метастатических опухолей ЦНС возможно лишь при глубоком знании патогенеза развития опухолевого заболевания. Выяснить роль метаболических функций мозга в процессе опухолевого роста возможно только при проведении экспериментальных исследований.

Злокачественная опухоль, по определению В.С. Шапота, является мощным дезорганизатором гомеостаза организма, а опухолевый процесс сопровождается совокупностью паранеопластических нарушений, связанных в том числе и с изменением метаболических процессов мозга [2]. Для нормального функционирования мозга наиболее важным моментом является передача нервного импульса, в осуществлении которого непосредственное участие принимает моноаминергическая система. Ферментативные реакции аминоксидаз, основной функцией которых является дезаминирование биогенных аминов, считаются основным путем образования H_2O_2 в мозге, поэтому исследование взаимодействия между антиокислительными и медиаторными системами мозга представляет интерес на разных этапах канцерогенеза.

Целью настоящего исследования явилось изучение метаболического состояния мозга крыс (свободнорадикальных и моноаминергических систем) в динамике химического канцерогенеза (на 1, 5 и 9-й недели).

Материалы и методы

Опыты проводили в осенне-зимний период. Объектом исследования служили 56 белых беспородных крыс-самцов массой 220–250 г. Индукцию опухолей осуществляли методом подкожной инъекции химического канцерогена – бенз(а)пирена. Животным вводили по 5 мг бенз(а)пирена в виде 1%-го раствора (0,5 мл) в перекисленном оливковом масле, который был приготовлен за месяц до введения крысам. В схе-

му опыта были включены 3 группы животных (1, 5 и 9-я неделя воздействия канцерогена). В качестве группы сравнения была включена группа интактных животных ($n = 20$), данные которых характеризовали относительную норму. Результаты оценивались с помощью методов вариационной статистики с использованием t и F -критерия Стьюдента–Фишера.

В качестве показателей нейрогуморального статуса в динамике химического канцерогенеза исследовали моноаминергические механизмы мозга: каталитическую активность аминоксидаз (МАО-А, МАО-Б, ДАО) [3, 4], содержание дофамина (ДА), норадреналина (НА), серотонина (5НТ), 5-оксииндолуксусной кислоты (5ОИУК) [5]. Об интенсивности ПОЛ и состоянии антиоксидантной системы в организме судили по содержанию в мозге диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА), сульфгидрильных групп (SH-групп), витаминов Е и А, активности СОД, каталазы, суммарной пероксидазной активности.

Результаты и обсуждение

Изучение свободнорадикальных процессов в ткани мозга крыс в динамике канцерогенеза показало (табл. 1), что в 1-ю неделю химического канцерогенеза обнаружено снижение в 3,7 раза содержание первичных продуктов ПОЛ – ДК и увеличение на 38 % уровня одного из конечных продуктов – МДА. Это сопровождалось возрастанием в 2 раза содержания общих и белковых SH-групп (табл. 1). При этом концентрация белка в ткани мозга снижалась на 35 %. Содержание витаминов А и Е в 1-ю неделю канцерогенеза (табл. 2) увеличивалось в 2,4 и 1,8 раза соответственно, и нарушался коэффициент их соотношения. Активность каталазы (табл. 3) в ткани мозга в 1-ю неделю снижалась, а СПА, напротив, компенсаторно увеличивалась в 1,6 раза. Однако коэффициенты соотношения СОД/СПА как для суммарной ферментативной супероксиддисмутазной активности, так и для митохондриального фермента – Мп-содержащей СОД были снижены в 1,6 раза.

Таблица 1

Содержание продуктов ПОЛ и сульфгидрильных групп в ткани мозга крыс в динамике химического канцерогенеза

Группа животных	МДА, мкМ/г ткани	ДК, мкМ/г ткани	SH-группы общие, мкМ/г ткани	SH-группы небелковые, мкМ/г ткани	SH-группы белковые, мкМ/г ткани
Интактные ($n = 12$)	6,9±0,2	154,4±5,3	11,7±0,4	2,9±0,24	8,5±0,4
1-я неделя канцерогенеза ($n = 12$)	7,8±0,7	41,1±5,7 ¹	23,7±1,7 ¹	4,2±0,8	18,5±1,8 ¹
5-я неделя канцерогенеза ($n = 12$)	8,1±0,4	78,8±4,7 ^{1,2}	10,9±0,4 ²	2,9±0,13	7,8±1,7 ²
9-я неделя канцерогенеза ($n = 12$)	8,2±0,4	115,7±5,7 ^{1,2,3}	12,9±0,4 ²	3,2±0,16	9,7±0,4 ²

Примечание. Достоверно по отношению к значениям группы: ¹ – интактных животных; ² – в 1-ю неделю канцерогенеза; ³ – в 5-ю неделю канцерогенеза.

Таблица 2

Содержание витаминов в ткани мозга крыс в динамике химического канцерогенеза

Группа животных	Витамин А, Ед/г ткани	Витамин Е, Мкмоль/г ткани	Коэффициент Е/А. Соотношения витаминов
Интактные ($n = 12$)	1,0±0,06	2,4±0,2	2,5±0,14
1-я неделя канцерогенеза ($n = 12$)	2,4±0,3 ¹	4,5±0,4 ¹	1,8±0,5 ¹
5-я неделя канцерогенеза ($n = 12$)	0,6±0,06 ^{1,2}	1,6±0,12 ^{1,2}	2,7±0,2
9-я неделя канцерогенеза ($n = 12$)	1,2±0,06 ^{1,3}	2,4±0,17 ^{2,3}	1,8±0,12 ^{1,3}

Примечание. См. примечание в табл. 1.

Таблица 3

Активность антиокислительных ферментов в ткани мозга при химическом канцерогенезе

Биохимический показатель	Интактные ($n = 12$)	1-я неделя канцерогенеза ($n = 12$)	5-я неделя канцерогенеза ($n = 12$)	9-я неделя канцерогенеза ($n = 12$)
Каталаза, ед/г ткани	501,1±19,4	280,0±4,1 ¹	514,5±60,9 ²	568,5±5,3 ^{1,2}
СОД общ., ед/гткани	666,7±39,3	659,4±46,5	509,8±88,2	618,8±53,1
Cu-Zn-СОД, ед/гткани	121,2±4,5	106,0±16	158,2±9,1 ^{1,2}	37,5±8,9 ^{1,2,3}
Мп-СОД, ед/гткани	555,5±27,8	553,1±24,7	351,6±53,1 ^{1,2}	581,3±39,2 ³
СПА, ед/гткани	9,3±1,5	15,0±1,6 ¹	9,8±1,4 ²	12,2±1,1
Коэффициент Сод общ/СПА	96,7±	44,0±5,1 ¹	54,3±5,1 ¹	46,9±3,4 ¹
Коэффициент Мп-СОД/СПА	58,7±3,7	36,9±4,3 ¹	37,8±4,8 ¹	47,6±4,1

Примечание. См. примечание в табл. 1.

При исследовании ферментов, дезаминирующих биогенные амины мозга, мы обнаружили, что через одну неделю после введения канцерогена (табл. 4) активность МАО-А повысилась и превышала уровень

у интактных крыс в 1,7 раза, активность МАО-Б не отличалась от нормальных величин, а ДАО снизилась в 1,9 раза по отношению к активности в мозге интактных животных. Что касается нейроаминов (табл. 4), то

наиболее выраженные изменения биохимических характеристик медиаторных процессов в мозге отмечались в 1-ю неделю химического канцерогенеза. Уровень дофамина в этот срок исследования повысился более чем в 2 раза. Содержание серотонина уменьшилось в 1,8 раза, а количество 5-ОИУК повысилось в

1,5 раза, что свидетельствует об усилении превращения серотонина по моноаминоксидазному пути. Кроме того, проведение корреляционного анализа установило положительную взаимосвязь между активностью МАО-А и содержанием в мозге 5-ОИУК, $r = 0,78$ ($P < 0,01$).

Таблица 4

Содержание биогенных аминов и активность аминоксидаз в ткани мозга в динамике химического канцерогенеза

Группа животных	МАО-А, мкмоль/мг/ч	МАО-Б, нмоль/мг/мин	ДАО, мкмоль/мг/ч	ДА, мкг/г ткани	НА, мкг/г ткани	5НТ, мкг/г ткани	5ОИУК, у.е.
Интактные (n = 20)	10,78±0,88	7,87±0,45	8,3±0,56	1,16±0,22	0,29±0,01	0,33±0,02	1676±59,65
1-я неделя канцерогенеза (n = 12)	18,45±2,99 ^{1,2}	8,54±0,64	4,48±0,35 ¹	2,48±0,48 ^{1,2}	0,3±0,03	0,18±0,02 ^{1,2}	2534,0±61,2 ¹
5-я неделя канцерогенеза (n=12)	7,2±0,6 ¹	10,77±0,83	16,77±1,62 ¹	1,27±0,07	0,3±0,015	0,37±0,02	2005±276
9-я неделя канцерогенеза (n=12)	12,85±2,45	12,49±0,36 ¹	29,05±9,87 ^{1,2}	1,36±0,1	0,29±0,03	0,35±0,03	1448±93,5

Примечание. ¹ – сравнение с интактной группой; различия статистически достоверны при $P < 0,01-0,001$; ² – сравнение с 5-й неделей канцерогенеза; различия статистически достоверны при $P < 0,01-0,001$.

В 1-ю неделю канцерогенеза в ткани мозга экспериментальных животных найдены серьезные изменения в системе как антиоксидантной защиты и накопления продуктов ПОЛ, так и нейромедиаторного звена.

5-я неделя химического канцерогенеза характеризовалась повышением в 1,8 раза по сравнению с предыдущим сроком содержания ДК при неизменном уровне вторичных продуктов ПОЛ. Содержание SH-групп возвратилось к исходным значениям. В среднем на 40 % по сравнению с интактными животными снизилось содержание витаминов А и Е, однако коэффициент их соотношения не отличался от показателей у интактных животных. Вернулась к фоновым значениям активность каталазы и СПА. В активности СОД произошло перераспределение между Cu-Zn- и Mn-зависимыми изоферментами. Так, активность Cu-Zn-зависимого фермента возросла по сравнению с 1-й неделей на 49 %, а активность митохондриальной изоформы, напротив, снизилась на 36,4 %. При этом коэффициенты соотношения СОД/СПА остались на уровне 1-й недели химического канцерогенеза. Что касается аминергической системы мозга, то 5-я неделя химического канцерогенеза характеризовалась по-прежнему неизменившейся активностью МАО-Б и нормализацией деятельности МАО-А в мозге крыс, при этом мы отмечали подъем активности ДАО в 2 раза.

На 9-й неделе химического канцерогенеза в контрольной группе животных было найдено нарастание уровня ДК на 46,8 % по сравнению с предыдущим сроком, однако показатель оставался ниже значений у интактных животных на 25 %. Сохранялся тот же, что и в предыдущий срок, уровень МДА, сульфгидрильных групп, активности каталазы, общей СОД, СПА и коэффициента соотношений СОД/СПА. Вместе с тем отмечены резкие изменения активности различных изоформ СОД. Так, активность Cu-Zn-зависимого фермента упала в 4,2 раза, а активность митохондриальной изоформы, напротив, увеличилась на 65,3 %. Вновь отмечена нормализация содержания витаминов А и Е, однако это сопровождалось падением на 33 % коэффициента их соотношения. На 9-ю неделю химического канцерогенеза активность МАО-А в мозге

животных не отличалась от активности у интактных крыс, но активности МАО-Б и ДАО повысились в 1,6 и 3,5 раза соответственно.

В 5-ю и 9-ю недели канцерогенеза показатели нейромедиаторного статуса в мозге животных нормализовались. Не исключено, что произошла адаптация крыс к канцерогенному воздействию. У адаптированных к бенз(а)пирену животных, несмотря на повышенную активность МАО-Б и ДАО, дезаминирующий гистамин, произошел переход на новый уровень метаболизма, позволяющий поддерживать нормальный баланс нейромедиаторов.

Анализ полученных данных показал, что в 1-ю неделю химического канцерогенеза в ткани мозга крыс резко возрастает антирадикальная активность, приводящая к падению ниже нормального уровня концентрации свободных радикалов. Аналогичные результаты были получены после 1–2 недель стрессирования крыс [6], при этом снижение свободнорадикального окисления, происходящее на фоне повышения антирадикальной активности ткани мозга, происходило параллельно с изменением свойств β -адренорецепторов. Известно, что свободные радикалы образуются в клетках и тканях как продукты деятельности оксидантной системы и как побочные продукты общего метаболизма, по уровню которого можно судить об интенсивности обмена веществ. Установлена посредническая роль активных форм кислорода в передаче сигнала от рецептора фактора роста к транскрипционному фактору в клетках гладкой мускулатуры, и высказана гипотеза о том, что активные формы кислорода могут участвовать в межклеточной и внутриклеточной передаче полученного клеткой сигнала [7, 8]. Повышение каталитической активности МАО-А через неделю после введения бенз(а)пирена, снижение ее активности до нормы в 5-ю и 9-ю недели канцерогенеза и на этом фоне резкое повышение реакции окислительного дезаминирования гистамина (субстрата медьсодержащих аминоксидаз) позволяют думать о трансформации МАО-А, ее способности дезаминировать не свойственные ей субстраты. Изменение активности МАО-А на этапах канцерогенеза может быть обусловлено как химической и структурной модификацией фермента,

так и нарушением структуры наружной мембраны, на которой локализован фермент.

Мы полагаем, что нарушения нейрохимических процессов в мозге крыс, наступающие уже в первые дни канцерогенного влияния, создают благоприятный фон для интенсификации процессов метаболического старения, что согласуется с предположением В. М. Дильмана (1983) о сходстве гипоталамических, гормональных, метаболических и иммунологических сдвигов при нормальном старении и действии на организм животного химических канцерогенов. Известно, что катализируемая МАО реакция окислительного деаминации биогенных аминов считается основным путем образования H_2O_2 в мозге. Одним из факторов, способствующих усилению перекисного окисления липидов, является H_2O_2 , а также другие продукты моноаминоксидазной реакции. Поскольку при канцерогенезе активность МАО увеличивается, то создаются условия для усиления ПОЛ в мембранах клеток мозга. Можно предположить, что снижение активности ДАО, которое происходит уже на 1-й недели канцерогенеза, при кислородной интоксикации сочетается с повышением содержания гистамина и полиаминов в мозге [9]. ДАО деаминирует не только гистамин, но и такие полиамины, как путресцин, спермин, спермидин. Из литературных источников известна способность опухолевой ткани к высокой продукции полиаминов [10].

Таким образом, можно констатировать, что наибольшие метаболические изменения в мозге крыс в системах как перекисного окисления липидов, так и нейрогуморальной наступают на ранних сроках канцерогенеза (в 1-ю неделю). В дальнейшем (5-я и 9-я неделя канцерогенеза) изменения были менее выра-

жены и касались в основном ферментативной активности аминоксидаз и различных изоформ СОД, вероятно за счет модифицирования их каталитических свойств. Известно, что изменение состояния свободнорадикальных реакций является патогенетическим фактором опухолевой болезни [11], и вероятно, что подобные изменения касаются также и ткани мозга. Возможно, что уже на ранних этапах канцерогенеза возникают общие моменты опухолевого метаболизма, которые являются предпосылками для транслокации опухолевых клеток в мозг.

Литература

1. Сакур П.Г. Разработка организационных форм диагностики метастатического поражения центральной нервной системы: Автореф. ... канд. мед. наук. Ростов н/Д, 2006.
2. Балицкий К.П., Шмалько Ю.П. Стресс и метастазирование злокачественных опухолей. Киев, 1987.
3. Сиворанши Г.А., Сидельников Ю.Н. // Лаб. дело. 1991. № 2. С. 51–54.
4. Волощина О.Н., Москвитина Т.А. // Лаб. дело. 1985. № 5. С. 289–291.
5. Коган Б.М., Нечаев Н.В. // Лаб. дело. 1979. № 5. С. 301–303.
6. Либе М.Л. и др. // Бюл. эксперим. биол. 1994. № 2. С. 212.
7. Гамалей И.А. // Свободнорадикальные процессы: экологические, фармакологические и клинические аспекты: Междунар. конф. СПб., 1999. С. 767.
8. Гусев В.Г., Панченко Л.Ф. // Там же. С. 784.
9. Горошинская И. А. и др. // Биол. науки. 1984. № 11. С. 20–23.
10. Шестопалов А.В. и др. // Изв. вузов. Сев.-Кавк. регион. Естеств. науки. Приложение. 2004. № 11. С. 105–109.
11. Лю Б.Н. Старение, возрастные патологии и канцерогенез (кислородно-перекисная концепция). Алматы, 2003.