

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича

Архив журнала

Вопросы медицинской химии

ISSN 0042-8809

1989

Внимание! Распознавание текста проведено в автоматическом режиме для облегчения работы поисковых систем. Будьте внимательны при копировании, возможны ошибки и неточности. Используйте сканированный графический вариант.

Archive of journal

Voprosy meditsinskoi khimii

ISSN 0042-8809

1989

Attention! OCR has been performed automatically for search engines only. Be careful when copying, errors are possible. Use scanned picture as standard.

<http://pbmc.ibmc.msk.ru>

ТОМ 35

БЫПУСК 5

СЕНТЯБРЬ — ОКТЯБРЬ

Двухмесячный научно-теоретический журнал

Основан в 1955 г.



МОСКВА · МЕДИЦИНА · 1989

ВОПРОСЫ МЕДИЦИНСКОЙ ХИМИИ



РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Главный редактор С. С. ДЕБОВ

В. Б. СПИРИЧЕВ (зам. редактора), И. П. АШМАРИН, Т. Т. БЕРЕЗОВ, А. В. ВАСИЛЬЕВ, Е. Н. ГЕРАСИМОВА, В. З. ГОРКИН, И. Б. ЗБАРСКИЙ, В. Л. КОЗЕЛЬЦЕВ (ответственный секретарь), А. Н. КЛИМОВ, Б. Ф. КОРОВКИН, Л. А. ЛОКШИНА, В. Н. ОРЕХОВИЧ, Л. Ф. ПАНЧЕНКО, М. Ш. ПРОМЫСЛОВ, Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД, Ю. А. РОМАКОВ, В. А. САКС, С. Е. СЕВЕРИН, В. А. ТУТЕЛЬЯН

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

БАЕВ А. А. (Москва)
БЫЧКОВ С. М. (Москва)
КОНСТАНТИНОВ А. А. (Хабаровск)
КУДРЯШОВ Б. А. (Москва)
ЛЯХОВИЧ В. В. (Новосибирск)
ПАСХИНА Т. С. (Москва)

ТРОИЦКИЙ Г. В. (Симферополь)
ТУРАКУЛОВ Я. Х. (Ташкент)
ТЯХЕПЫЛД Л. Я. (Тарту)
ЯКОВЛЕВ Н. Н. (Ленинград)
ЯСАЙТИС А. А. (Вильнюс)

- зян К. Г. // Вопр. мед. химии. — 1985. — № 3. — С. 86—87.
14. Мхитарян В. Г., Геворкян Д. М. // Биол. журн. Армении. — 1980. — Т. 33. — № 6. — С. 611—620.
 15. Ордян В. В. Эффективность комбинированной антиоксидантотерапии в регуляции метаболизма фосфолипидов и активности лактатдегидрогеназы, креатинкиназы и их изоферментов при остром инфаркте миокарда: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Ереван, 1986.
 16. Смирнов А. А., Чирковская Е. В., Манукян К. Г. // Биохимия. — 1961. — Т. 26. — С. 1027—1033.
 17. Duggan D. D. // Arch. Biochem. — 1959. — Vol. 84. — P. 116—120.
 18. Fiske C. H., Subbarow G. // J. biol. Chem. — 1925. — Vol. 66. — P. 365.
 19. Folch J. // Ibid. — 1942. — Vol. 146. — P. 35.
 20. Marinetti G. V., Stoltz E. // Biochim. biophys. Acta. — 1956. — Vol. 21. — P. 168—173.

Поступила 09.09.88

PHOSPHOLIPIDS-GLYCERIDES, LIPID PEROXIDATION IN ERYTHROCYTES, CONTENT OF L-TOCOPHEROL IN BLOOD PLASMA AND ERYTHROCYTES OF RATS WITH ALLOXANE DIABETES BEFORE AND AFTER COMPLEX ANTIOXIDANT THERAPY

K. G. Karaguezryan, D. M. Gevorkyan

Institute of Experimental Biology, Academy of Sciences of the Armenian SSR, Medical School, Yerevan

Quantitative and qualitative alterations in content of phospholipids were studied in erythrocytes of rats with alloxane diabetes; rate of lipid peroxidation and content of L-tocopherol were estimated in blood plasma before and after the antioxidant therapy. Patterns of lipid metabolism were normalized after the course of treatment involving simultaneous administration of L-tocopherol and ascorbic acid within 10-15 days. The antioxidants used decreased the rate of lipid peroxidation in erythrocyte membranes and stimulated biosynthesis of phospholipids de novo. Role of antioxidants in phospholipid metabolism is discussed.

УДК 616-006.04-033.2-02:615.277.3]-092.9-07

С. Г. Чубинская, Н. А. Севастьянова, И. Г. Векслер, Л. И. Слуцкий

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОТКАННЫХ КОМПОНЕНТОВ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ И ЛЕГКИХ У МЫШЕЙ ПРИ МЕТАСТАЗИРОВАНИИ И ПРИМЕНЕНИИ ХИМИОПРЕПАРАТОВ

Институт проблем онкологии им. Р. Е. Кавецкого АН УССР, Кисв, НИИ травматологии и ортопедии Минздрава Латвийской ССР, Рига

Метастазирование злокачественных опухолей является сложным биологическим процессом, зависящим как от свойств опухолевых клеток, так и от состояния защитно-компенсаторных систем организма. Одной из таковых является система соединительной ткани, в тесное взаимодействие с которой вступает опухоль в процессе своего развития и роста [1, 4]. На пути миграции опухолевых клеток естественными барьерами служат структуры базальных мембран и соединительнотканной стромы, наиболее важными составляющими которых, как известно, являются коллаген, эластин, протеогликаны и гликопротеины. По мнению ряда авторов [15, 17], инвазивный рост и метастазирование являются следствием патологического взаимодействия между опухолевыми клетками и стромой хозяина.

Детально исследованы морфофункциональные изменения соединительной

ткани в процессе канцерогенеза и роста опухолей, а также под влиянием различных стимулирующих и угнетающих ее функциональное состояние воздействий. Однако в биохимическом аспекте соединительнотканная строма злокачественных новообразований и реакция соединительной ткани органов-мишеней на стадии метастазирования изучены недостаточно. Целью настоящей работы явилось сравнительное изучение содержания указанных соединительнотканых компонентов в различных экспериментальных опухолях и легких при метастазировании и под влиянием лекарственных воздействий, направленных на подавление этого процесса.

Методика

В опытах использовано 300 мышей-самок линии С57BL/6 массой 20—23 г из вивария Института проблем онкологии им. Р. Е. Кавецкого АН УССР. Метастазирующие в легкие

опухоли — меланому В-16 и карциному легких Льюис (3LL) и метастазирующую аденокарциному молочной железы 755 (Са 755) переносили внутримышечно в заднюю лапку путем инокуляции $2 \cdot 10^5$ опухолевых клеток в 0,2 мл раствора Хенкса. Часть животных с привитой меланомой В-16 и карциномой 3LL использовали для терапевтических воздействий. Этим животным вводили триэлин [10] — ингибитор протеолитических ферментов из подчелюстных слюнных желез собак (по 10 000 ИЕ/кг 2 раза в сутки в течение 16 дней подряд внутрибрюшинно), антибрадикининный препарат пармидин [5] (100 мг/кг в течение 10 сут перорально) и цитостатик циклофосфан (ЦФ, по 50 мг/кг внутримышечно с интервалом 96 ч 4 раза). Начало введения триэлина — 3-и сутки, ЦФ и пармидина — 6-е сутки после переноски опухоли. Препараты вводили как отдельными курсами, так и совместно с ЦФ в тех же дозах и теми же курсами. Животных забивали под эфирным наркозом на 21-е сутки, после чего определяли массу опухоли в месте инокуляции, среднее количество и объем легочных метастазов [13]. В обезжиренном высушенном гомогенате опухоли и легких определяли коллаген (по гидроксипролину), неколлагеновые белки (по тирозину), гликозаминогликаны (по гексуроновым кислотам), гликопротеины (по гексозам). Описание биохимических методов приведено в работе [8]. При исследовании интактных легких здоровых мышей (контроль) и легких с метастазами или без таковых мы использовали гомогенат всего легкого. Цифровые данные обрабатывали методом вариационной статистики с определением уровня значимости (p).

Результаты и обсуждение

Как видно из табл. 1, содержание коллагена, определяемое по гидроксипролину, в первичных опухолях значительно ниже, чем в окружающей опухоль мышечной ткани. Наибольшая концентрация гидроксипролина выявлена в Са 755, наименьшая — в меланоме В-16. Вместе с тем исследуемые

опухоли не отличаются повышенным содержанием неколлагеновых белков. Тенденция к повышению концентрации тирозина наблюдается в меланоме В-16. Наиболее богата гексуроновыми кислотами опухолевая ткань Са 755, клетки которой, вероятно, сохраняют способность к биосинтезу гликозаминогликанов. Можно полагать, что гликозаминогликаны способствуют структурной стабилизации коллагена и этим обуславливают меньшую злокачественность Са 755. Концентрация гексоз снижена во всех исследуемых опухолях, но в наибольшей степени в меланоме В-16.

Реакция соединительнотканых компонентов легких у животных с различными новообразованиями имеет неодинаковый характер (см. табл. 1). Так, у мышей с Са 755 величины концентраций гидроксипролина, гексуроновых кислот и гексоз в ткани легких существенно не отличаются от соответствующих показателей в контроле. По всей вероятности, Са 755 не вызывает в свободных от метастазов легких фиброзной реакции, которая сопровождается рост некоторых других злокачественных опухолей, отражая так называемое «дистанционное» действие рака [6].

В ткани легких мышей с меланомой В-16 отмечается статистически значимое повышение концентрации гидроксипролина, что, очевидно, связано со стромальной (соединительнотканной) реакцией на метастазы. Судя по направленности изменений гексуроновых кислот и гексоз, в легочной ткани у этих животных повышается концент-

Таблица 1

Содержание соединительнотканых компонентов в первичных опухолях и легких у мышей с различными новообразованиями (в г на 100 г сухой ткани)

| Объект исследования | Гидроксипролин | Тирозин | Гексуроновые кислоты | Гексозы |
|--------------------------------|----------------|---------------|----------------------|---------------|
| Мышца (контроль) | 0,190±0,047 | 1,543±0,044 | 0,454±0,020 | 1,467±0,064 |
| Са 755 | 0,093±0,004* | 1,423±0,072 | 0,978±0,042** | 0,671±0,031** |
| В-16 | 0,015±0,004** | 1,915±0,191 | 0,497±0,005* | 0,378±0,081** |
| 3LL | 0,056±0,006** | 1,457±0,175 | 0,486±0,051 | 0,596±0,041** |
| Интактные легкие (контроль) | 0,596±0,040 | 1,650±0,089 | 0,640±0,007 | 1,337±0,040 |
| Легкие без метастазов (Са 755) | 0,604±0,021 | 2,050±0,050** | 0,819±0,100 | 1,496±0,126 |
| Легкие с метастазами В-16 | 0,920±0,076** | 1,677±0,114 | 0,734±0,043* | 1,152±0,070* |
| Легкие с метастазами 3LL | 0,392±0,024** | 1,187±0,107** | 0,601±0,015* | 1,176±0,044* |

Примечание. Здесь и в табл. 2: одна звездочка — $p < 0,05$; две — $p < 0,01$ по сравнению с соответствующим контролем.

рация гликозаминогликанов и несколько снижается концентрация гликопротеинов. Концентрация тирозина в легких с метастазами меланомы В-16 практически не изменяется. Соединительнотканная реакция легких мышей с карциномой 3LL отличается от описанной выше. Снижение концентрации гидроксипролина, гексоз при тенденции к снижению уровня гексуроновых кислот указывает на отсутствие активной стромальной реакции со стороны легких мышей с метастазами карциномы 3 LL, чем можно объяснить более интенсивное (по количеству и объему узлов) метастазирование карциномы 3 LL по сравнению с меланомой В-16. Напротив, развитие активной стромальной реакции в легких, по-видимому, препятствует инвазии опухолевых клеток, отодвигая сроки появления метастазов в этом органе.

Одним из подходов в противораковом лечении является применение средств, ингибирующих не только первичную опухоль, но и факторы, способствующие процессу метастазирования. С этой целью нами изучено действие ЦФ, триэлина, пармидина и комбинаций ЦФ с пармидином и триэлином на биохимические показатели соединительной ткани. Необходимо указать, что ЦФ в используемых дозах ингибирует процесс метастазирования карциномы 3 LL, снижая в среднем на 33 % количество и на 74 % объем метастатических узлов по сравнению с контролем.

В табл. 2 представлены данные о влиянии химиопрепаратов на содержание соединительнотканых компонентов у животных с карциномой 3 LL. Обнаружено, что ЦФ вызывает повышение уровня гидроксипролина на 27 % при тенденции к повышению в опухоли активности гексуроновых кислот и гексоз. Снижение содержания тирозина при этом составляет 24 %. В ткани легких после введения ЦФ концентрация гидроксипролина повышается на 70 %, гексоз — на 75 % при несущественных изменениях уровня гексуроновых кислот.

Пармидин, устраняющий ряд неблагоприятных сосудистых и внесосудистых эффектов кибинов при метастазировании [3], тормозит количественный выход легочных метастазов на 45 % и их объем на 65 %. Применение пармидина вызывает повышение concentra-

Таблица 2
Содержание соединительнотканых компонентов в опухоли (карцинома 3LL) и легких мышей после применения химиотерапевтических препаратов (в г на 100 г сухой ткани)

| Условия определения | Гидроксипролин | | Тирозин | | Гексуроновые кислоты | | Гексозы | |
|------------------------------------|----------------|---------------|---------------|---------------|----------------------|---------------|---------------|---------------|
| | опухоль | легкие | опухоль | легкие | опухоль | легкие | опухоль | легкие |
| Контроль (физиологический раствор) | 0,056±0,006 | 0,392±0,024 | 1,457±0,125 | 1,187±0,107 | 0,486±0,051 | 0,601±0,015 | 0,596±0,041 | 1,176±0,044 |
| ЦФ | 0,072±0,005* | 0,666±0,030** | 1,103±0,011** | 1,466±0,039* | 0,527±0,019* | 0,609±0,034* | 0,672±0,039* | 2,058±0,271** |
| Пармидин | 0,130±0,008** | 0,653±0,038** | 1,048±0,052** | 1,635±0,052** | 0,471±0,014 | 0,741±0,027** | 0,759±0,026** | 2,492±0,148** |
| Триэлин | 0,072±0,006* | 0,766±0,063** | 1,288±0,055 | 1,636±0,038** | 0,411±0,008 | 0,795±0,047** | 0,691±0,031* | 2,505±0,106** |
| ЦФ + пармидин | 0,073±0,005* | 0,490±0,020* | 1,260±0,077 | 1,332±0,266 | 0,444±0,018 | 0,914±0,043** | 0,783±0,009** | 2,921±0,034** |
| ЦФ + триэлин | 0,098±0,008** | 0,641±0,037** | 1,292±0,091 | 1,571±0,076** | 0,467±0,030 | 0,716±0,030** | 0,878±0,040** | 2,691±0,116** |

ции гидроксипролина на 132 %, гексоз на 27 %, снижение уровня тирозина на 28 % в карциноме 3 LL, а также повышение содержания всех соединительнотканых компонентов в легких у этих животных. Биохимические изменения аналогичной направленности вызывает триэлин, после введения которого количество легочных метастазов уменьшается по сравнению с нелеченым контролем на 52 %, а их объем — на 81 %.

При совместном введении ЦФ с триэлином количество метастазов карциномы 3 LL снижено на 47 %, по объему метастатических узлов — на 85 %. Комбинированное введение препаратов вызывает повышение уровня гидроксипролина на 75 %, гексоз на 47 % при тенденции к снижению концентрации тирозина в ткани новообразований. Повышение всех исследуемых показателей происходит у этих животных в ткани легкого.

Торможение метастатического процесса под влиянием комбинированного применения ЦФ с пармидином (на 71 % по количеству и на 96 % по объему) значительно превышает антиметастатический эффект раздельного введения каждого из препаратов. Под влиянием комбинации указанных препаратов в ткани опухоли наблюдается прирост содержания гидроксипролина и гексоз, а в ткани легких — и гексуриновых кислот.

Анализ данных о влиянии лекарственных препаратов на компоненты соединительной ткани у животных с меланомой В-16 позволяет отметить, что изменения биохимических показателей в этой опухоли в основном имеют ту же направленность, что и в карциноме 3 LL. Что же касается изменений содержания соединительнотканых компонентов в легких, то у животных с меланомой В-16 под влиянием лекарственных воздействий обнаружено некоторое нарастание концентрации гексоз без статистически значимых изменений уровня гидроксипролина, тирозина и гексуриновых кислот. Наряду с этим следует подчеркнуть, что торможение роста метастазов меланомы В-16 под влиянием применяемых лекарственных веществ и их комбинаций выражено слабее на 15—25 % по сравнению с их ингибирующим влиянием на легочные метастазы карциномы 3 LL.

Итак, полученные результаты свидетельствуют о различном содержании коллагена в экспериментальных новообразованиях несоединительнотканной природы. Судя по концентрации гидроксипролина, наибольшее содержание коллагена наблюдается в Са 755, которая, как правило, не метастазирует во внутренние органы. Ткань Са 755 содержит и наиболее высокий уровень гексуриновых кислот и гексоз по сравнению с метастазирующими опухолями — карциномой 3 LL и меланомой В-16. Рост этих опухолей сопровождается неоднотипной реакцией со стороны соединительной ткани легких. Причем, если метастазирование карциномы 3 LL не вызывает выраженных изменений содержания соединительнотканых компонентов в легких у мышей, то появление метастазов меланомы В-16 в легких сопровождается существенным повышением концентрации гидроксипролина, характеризуя интенсивность накопления коллагена и активную стромальную реакцию. Полагают, что главным фактором, определяющим интенсивность накопления коллагена, является природа опухоли [2, 14] и что регулирующее влияние опухоли на коллагенообразование осуществляется путем пролиферации фибробластов [16].

Данные литературы, преимущественно морфологического характера, свидетельствуют об определенных изменениях соединительнотканной стромы опухолей при химиотерапии, причем отмечено, что преобладание того или иного процесса в регрессирующей опухоли зависит от ряда причин, в том числе от пролиферативной способности элементов стромы и окружающей неоплазму соединительной ткани [1, 7, 9]. При эффективной химиотерапии опухолей усиливается накопление коллагена в строме [7]. Согласно нашим данным, применение в нетоксических дозах лекарственных веществ различного механизма действия (ЦФ, триэлин, пармидин) вызывает односторонние изменения соединительнотканых компонентов в карциноме 3 LL и меланоме В-16, хотя в количественном отношении эти изменения, естественно, различны.

Цитостатик ЦФ, а также триэлин и пармидин как при раздельном применении, так и в комбинации вызывают в легких мышей с карциномой 3 LL

повышение биосинтеза гидроксипролина и углеводородсодержащих биополимеров — гликозаминогликанов, указывая на активную стромальную реакцию этого органа. Существенные количественные изменения при этих же воздействиях претерпевают, судя по нарастанию уровня гексоз, и гликопротеины. Результаты наших исследований согласуются с данными литературы [6, 11, 12], свидетельствующими об увеличении содержания компонентов соединительной ткани в некоторых органах, включая легкие, под воздействием блеомицина, актиномицина D и других противоопухолевых препаратов. Однако реакция соединительнотканых компонентов легких на одни и те же препараты может быть различной в зависимости от самой опухоли, на что указывают результаты наших опытов с применением химиопрепаратов у мышей с меланомой B-16. В этих опытах, как отмечено выше, наблюдалась четкая тенденция к снижению концентрации гидроксипролина в ткани легких. Возможно, что соединительнотканная реакция легких зависит от степени чувствительности метастазов к лекарственной терапии, темпов регрессии метастазов и некоторых других биологических особенностей новообразований, объяснение которым в настоящее время еще затруднительно.

Таким образом, на основании наших исследований можно заключить, что при эффективных антиметастатических лекарственных воздействиях происходит активация соединительнотканной реакции, выражающаяся в накоплении коллагена и других биохимических изменений в легких, что, по всей вероятности, носит защитный характер, препятствуя дальнейшему распространению метастатического процесса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балицкий К. П., Векслер И. Г. Реактивность организма и химиотерапия опухолей. — Киев, 1975.
2. Балицкий К. П., Придатко О. Е. // Укр. биохим. журн. — 1967. — Т. 39, № 2. — С. 220—222.
3. Векслер И. Г., Рябуха В. Н., Чубинская С. Г. // Применение ферментов в медицине. — Симферополь, 1987. — С. 7—8.
4. Кавецкий Р. Е. Взаимодействие организма и опухоли. — Киев, 1977.
5. Машковский М. Д., Шварц Г. Я., Либерман С. С. и др. // Хим.-фарм. журн. — 1981. — № 2. — С. 117—121.
6. Озолина А. Ж. Биохимические аспекты

реактивности соединительной ткани. — Рига, 1986.

7. Преснов М. А. Регрессия опухолей при химиотерапии алкилирующими препаратами: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1969.
8. Слуцкий Л. И. Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани. — Л., 1969.
9. Слуцкий Л. И., Астапенко Е. Б. // Экспер. онкол. — 1983. — Т. 5, № 6. — С. 10—18.
10. Сыновец А. С., Левицкий А. П. Ингибиторы протосолитических ферментов в медицине. — Киев, 1985.
11. Bauer K. A., Skarin A. T., Balikian J. P. et al. // Amer. J. Med. — 1983. — Vol. 74. — P. 557—563.
12. Cantor J. O., Osman M., Cerreta J. M. et al. // Proc. Soc. exp. biol. (N.Y.). — 1983. — Vol. 173. — P. 362—366.
13. Dumont P., Atassi G., Jager R. // Clin. exp. Metastas. — 1983. — Vol. 1, N 4. — P. 349—357.
14. Gullino P. M., Grantham F. H. // Cancer Res. — 1963. — Vol. 23, N 4. — P. 648—653.
15. Pauli B. U., Schwartz D. E., Thonar E. J.-M., Kueltner K. E. // Cancer Metastas. Rev. — 1983. — Vol. 2. — P. 129—152.
16. Shelton E. // J. Nat. Cancer Inst. — 1964. — Vol. 32, N 3. — P. 709—722.
17. Van den Booff A. // Int. Rev. Connect. Tissue Res. — 1983. — Vol. 10. — P. 395—432.

Поступила 20.07.88

BIOCHEMICAL ALTERATIONS OF CONNECTIVE TISSUE COMPONENTS IN MICE NEOPLASM AND LUNG TISSUES UNDER CONDITIONS OF METASTASES DEVELOPMENT AND CHEMOTHERAPY

S. G. Chubinskaya, N. A. Sevast'yanova, I. G. Vexler, L. I. Slutsky

R. E. Kavetsky, Institute for Oncological Problems, Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev; Institute of Traumatology and Orthopedics, Ministry of Public Health of the Latvian SSR, Riga

The highest content of hydroxyproline, hexuronic acids and hexoses was found in non-metastatic tumor tissue Ca 755 of mice as compared with metastatic neoplasms carcinoma 3LL and melanoma B-16. Development of melanoma B-16 metastases involved the active lung stromal reaction, while carcinoma 3LL metastatic spreading did not cause any distinct connective tissue reactions in lungs. Non-toxic doses of drugs, operating via dissimilar mechanisms (cyclophosphane, trielin, pamidine), resulted in similar alterations of the connective tissue components studied in primary tumors of both carcinoma 3LL and melanoma B-16. Content of hydroxyproline, hexuronic acids and hexoses was increased in lung tissue of mice with carcinoma 3LL, simultaneously with distinct inhibition of metastases development after administration of these drugs. The chemotherapeutic treatment did not increase the stromal reaction of lungs with metastases of melanoma B-16 and its antimetastatic effect was less distinct as compared with carcinoma 3LL.