

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 616-006-018:577.15
©Смирнова, Кондакова

ЗАВИСИМОСТЬ АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ ОТ ВЫРАЖЕННОСТИ ПРОЦЕССОВ ПРОЛИФЕРАЦИИ И ТИПА ТКАНЕВОЙ ОРГАНИЗАЦИИ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА

Л.П. Смирнова, И.В. Кондакова

Научно-исследовательский институт онкологии Томского научного центра СО
РАМН, 634009 Томск, пер. Кооперативный 5; факс: (3822) 514-097,
эл. почта. oncology@info.tsu.ru

Изучали активность антиоксидантных ферментов - супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы, глутатионтрансферазы, глутатионредуктазы, а также активность ксантиноксидазы в опухолях с разной степенью выраженности процессов пролиферации. Для проведения исследований была использована карцинома Эрлиха, растущая в солидной и асцитной формах. Активность ферментов измеряли в разные фазы роста, отличающиеся по скорости пролиферации. В ходе исследования было выявлено, что активность антиоксидантных ферментов существенно зависит от типа тканевой организации опухоли: в наиболее активно пролиферирующей асцитной опухоли была зарегистрирована низкая активность супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы по сравнению с солидной формой. При переходе опухолей в стационарную фазу роста было обнаружено увеличение активностей супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы и снижение каталазной, глутатионредуктазной и ксантиноксидазной активностей. В работе впервые установлено наличие взаимосвязи между активностью антиоксидантных ферментов и фазами роста, а также тканевой организацией опухолей. Высказано предположение об участии антиоксидантных ферментов в качестве регуляторов пролиферации опухолевых клеток.

Ключевые слова: опухолевые клетки, антиоксидантные ферменты, пролиферативная активность.

ВВЕДЕНИЕ. В настоящее время общепризнана роль антиоксидантных ферментов (АОФ) в защите клеток от повреждающего действия как первичных, так и вторичных свободных радикалов [1, 2]. В частности, в ряде работ показано, что в опухолевых клетках высокая активность АОФ может являться одной из причин их устойчивости к "окислительному стрессу" [3] и служить фактором развития резистентности опухолей к терапевтическим воздействиям, в основе которых лежит свободнорадикальный механизм [4]. Однако в последнее время функция АОФ рассматривается как система регуляции свободнорадикального окисления в клетках, которое играет значительную роль в регуляции важнейших клеточных функций. Супероксидный радикал, органические пероксиды и другие

АНТИОКСИДАНТНЫЕ ФЕРМЕНТЫ В КАРЦИНОМЕ ЭРЛИХА

активированные кислородные метаболиты (АКМ) участвуют в синтезе эйкозаноидов, метаболизме ксенобиотиков, индукции транскрипции некоторых генов, в частности, непосредственно активируют онкогены *c-fos* и *c-myc*, а также ген *c-jun*, кодирующий главную форму фактора транскрипции AP-1 [2]. Кроме того, показано функционирование АКМ в качестве посредников в формировании клеточного ответа [5, 6]. В последнее время появился ряд работ о роли АКМ в регуляции клеточной пролиферации [7, 8]. Супероксидный радикал и пероксид водорода в низких концентрациях стимулируют деление клеток [9, 10], а АОФ, контролируя стационарную концентрацию радикалов, могут выступать в качестве регуляторов пролиферации [11,12]. Существует мнение, что опухолевые клетки способны продуцировать супероксидный радикал [5, 10].

Скорость клеточной пролиферации зависит от структурной организации опухоли и фазы ее роста [13,14]. Кроме того, популяция опухолевых клеток подвергается естественному отбору со стороны токсических и ростостимулирующих факторов организма опухоленосителя, и со своей стороны также влияет на него. Соответственно, свойства популяции опухолевых клеток отражают условия развития опухоли в процессе ее роста. Поэтому, исходя из имеющихся данных об участии АКМ в регуляции пролиферативных процессов, мы сочли интересным исследовать активность АОФ в опухолевых клетках с разной скоростью пролиферации. Вышеперечисленные сведения позволяют предположить, что АОФ могут являться одним из важных регуляторных звеньев, изменяя активность которых, можно влиять на скорость деления клеток [7-10]. Однако к настоящему времени, нет четких данных, показывающих взаимосвязь между активностью антиоксидантных ферментов и выраженностью пролиферативных процессов в опухолевых клетках. Развитие перевивных опухолей характеризуется прохождением определённых фаз роста (логарифмической, стационарной и терминальной) с различной пролиферативной активностью [13].

В связи с вышеизложенным, целью нашей работы являлось исследование активности АОФ в солидной и асцитной формах карциномы Эрлиха в разные фазы роста.

МЕТОДИКА. Эксперимент был проведен на 36 мышах линии СВА. Животных получали из отдела экспериментальных биомоделей НИИ фармакологии СО ТНЦ РАМН и содержали в стандартных виварных условиях при 20-22°C контролируемым световым периодом (12ч/сутки). В опытах использовали мышей-самцов весом 23-25 грамм по 18 животных в каждой группе.

Способность асцитной карциномы Эрлиха расти в двух формах тканевой организации сделала ее удобной моделью для решения наших задач. Клетки асцитной карциномы Эрлиха поддерживали путем еженедельной внутрибрюшинной перевивки (5×10^6 клеток в 0,5 мл среды 199 на одну мышь). Для индукции солидных опухолей мышам вводили клеточную суспензию подкожно на бедро.

Опухоль для исследования брали в следующих фазах роста: логарифмической (на 4 сутки для асцитной формы и 9 день - для солидной), стационарной (9 сутки для асцитной формы и 15 - для солидной) и терминальной (14 сутки для асцитной формы и 15 - для солидной). Фазы роста солидных опухолей определялись в зависимости от их объёма, асцитных - по расчету числа клеток на 1 мл среды [13]. Объём опухоли вычисляли по формуле: $V = a \times b \times \pi / 6$, где a - короткий, b - длинный диаметр опухоли.

Гистологический контроль показал, что развившиеся солидные опухоли представляли аденокарциномы с очагами некроза.

Исследуемый материал гомогенизировали на ледяной бане в фосфатном буфере pH 7,4 с детергентом тритон X-100. Определение активности ферментов проводили в супернатанте ткани после центрифугирования гомогената при 4°C, 30000 g в течении 40 минут на ультроцентрифуге "Beckman L8M". В течение 3-5

минут в каждом образце исследовали кинетику ферментативной реакции с помощью спектрофотометра "Beckman DU 8B" (США).

Активность каталазы определяли спектрофотометрически по методу Beers [15] по изменению концентрации пероксида водорода при добавлении исследуемого образца. В среду инкубации, содержащую 30 мМ пероксида водорода в 50 мМ фосфатном буфере pH 7,0, добавляли тканевой гомогенат и регистрировали изменение оптической плотности при длине волны поглощения 240 нм в течение 3-5 минут. При расчете активности каталазы исходили из значения коэффициента мольной экстинкции перекиси водорода $E=0,081 \text{ мМ}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$.

Активность глутатионпероксидазы определяли по методу Little [16], регистрируя окисление NADPH в сопряженной глутатионредуктазной реакции восстановления гидропероксида третичного бутила. В среду инкубации, содержащую 0,1 мМ NADPH, 1 мМ ЭДТА и 0,125 единиц активности глутатионредуктазы в 50 мМ фосфатном буфере pH 7,4, добавляли тканевой гомогенат и регистрировали спонтанное изменение оптической плотности при длине волны поглощения 340 нм в течение 3-5 минут. После добавления гидропероксида третичного бутила до конечной концентрации 0,2 мМ регистрировали изменение оптической плотности в течение 5 минут. При расчете активности глутатионпероксидазы исходили из значения коэффициента мольной экстинкции восстановленного NADPH $E=6,22 \text{ мМ}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ и учитывали разность между спонтанным изменением оптической плотности и изменением оптической плотности после добавления субстрата.

Активность глутатион-S-трансферазы определяли по методу Keen et al. [17] по образованию хромогенных конъюгатов глутатиона с 1-хлоро-2,4-динитробензолом. В среду инкубации, содержащую 1 мМ восстановленного глутатиона в 50 мМ фосфатном буфере pH 7,0, добавляли 8,1% раствор 1-хлоро-2,4-динитробензола в этаноле до конечной концентрации 1 мМ и измеряли изменение оптической плотности, регистрирующееся при спонтанном образовании хромогенного комплекса при длине волны поглощения 340 нм в течение 3-5 минут. После добавления гомогената регистрировали скорость ферментативной реакции по изменению оптической плотности при той же длине волны в течение 5 минут. При расчете активности глутатион-S-трансферазы исходили из значения коэффициента миллимольной экстинкции хромогенного конъюгата $E=9,6 \text{ мМ}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ и учитывали разность между ферментативным и спонтанным образованием хромогенного комплекса.

Активность глутатионредуктазы определяли по методу Carbery [18] по окислению NADPH в реакции восстановления окисленного глутатиона. В среду инкубации, содержащую 0,1 мМ NADPH и 1 мМ ЭДТА в 50 мМ фосфатном буфере pH 7,4, добавляли тканевой гомогенат и регистрировали спонтанное изменение оптической плотности при длине волны поглощения 340 нм до остановки процесса. После добавления окисленного глутатиона до конечной концентрации 1 мМ регистрировали изменение оптической плотности в течение 5 минут. При расчете активности глутатионредуктазы исходили из значения коэффициента мольной экстинкции восстановленного NADPH $E=6,22 \text{ мМ}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ и учитывали разность между спонтанным изменением оптической плотности и изменением оптической плотности при внесении субстрата.

Активность супероксиддисмутазы определяли по скорости ингибирования восстановления нитросинего тетразолия (НСТ) в системе ксантин-ксантинооксидаза, являющейся источником супероксидного радикала, по методике описанной Вартанян и Гуревич [19]. Реакционная смесь содержала растворы карбоната натрия - 50 мМ, ЭДТА-0,1 мМ, НСТ -37,5 мкМ в 50 мМ фосфатном буфере pH 10,2 и 0,1 мМ раствор ксантина в 0,5 М NaOH. После добавления ксантинооксидазы 0,05 единиц активности на пробу, регистрировали изменение оптической плотности в течение 3 минут при длине волны 560 нм и в дальнейшем использовали эту кинетическую кривую для определения начальной скорости

АНТИОКСИДАНТНЫЕ ФЕРМЕНТЫ В КАРЦИНОМЕ ЭРЛИХА

восстановления НСТ без СОД. Затем в ту же кювету добавляли образец, содержащий СОД и также в течение 3 минут регистрировали изменение оптической плотности во времени, связанное с восстановлением НСТ в присутствии СОД. Расчет активности изучаемой СОД производили, модифицировав вышеуказанную методику, используя коэффициент миллимолярной экстинкции образующегося формазана $E=3,0 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ [20].

Активность ксантиноксидазы определяли по скорости восстановления нитросинего тетразолия гомогенатом опухоли в системе, содержащей ксантин, использующейся в предыдущей методике [19]. Расчет активности производился аналогично, используя коэффициент молярной экстинкции формазана.

Активность ферментов пересчитывали на мг белка, содержание которого в исследуемой ткани определялось по методу Лоури, используя бычий сывороточный альбумин в качестве стандарта [21]. Единица ферментативной активности (mU) соответствует количеству фермента, которое катализирует превращение 1 мкмоль субстрата в 1 мин при 25°C .

В работе использовались реактивы фирм "Merck" (Германия), "Serva" (Германия), "Sigma" (США), "Reanal" (Венгрия) и отечественные реактивы.

Результаты обрабатывали статистически с использованием непараметрического U - критерия Вилкоксона-Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. Характеристика фаз роста опухолей.

На рисунке 1 приведена динамика роста опухолей карциномы Эрлиха в асцитной и солидной формах. В фазе логарифмического роста (9 сутки для солидных и 4 - для асцитных опухолей) средний объем солидной карциномы составлял $2,07 \text{ cm}^3$, а асцит содержал 17×10^6 клеток/мл. Фаза стационарного роста (7 сутки для асцитной формы и 15 сутки для солидной) характеризовались средним объемом солидной опухоли $4,41 \text{ cm}^3$ и содержанием 32×10^6 клеток в 1 мл асцитной опухоли.

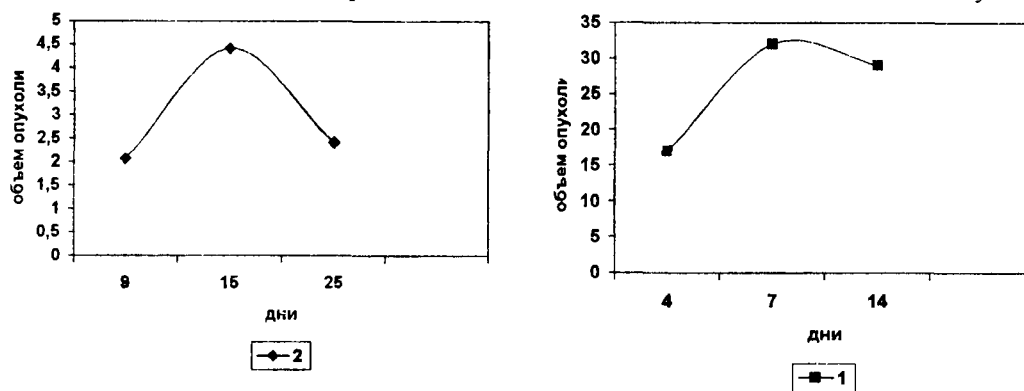


Рисунок 1.

Скорость роста асцитной (1) и солидной (2) формы карциномы Эрлиха. Объем асцитной опухоли (количество клеток $\times 10^6/\text{мл}$). Объем солидной опухоли (cm^3).

Терминальная фаза достигалась солидной опухолью на 25 сутки при объеме $2,41 \text{ cm}^3$. Гистологически были видны обширные зоны некроза, строма выражена крайне скудно. Асцитная опухоль в терминальной фазе роста (14 сутки) содержала 29×10^6 клеток в мл. Как было показано ранее, асцитная опухоль характеризуется более высокой скоростью клеточной пролиферации, чем солидная [13,14].

Изменения активности ферментов, утилизирующих АКМ. Изменения в активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы в процессе роста опухоли в солидной и асцитной форме представлены на рисунках 2 и 3 соответственно. Как видно из рисунков, в солидной опухоли процессы дисмутации супероксидного радикала и разложения перекиси водорода выражены в большей степени по сравнению с асцитом. Активность СОД и каталазы значительно варьировали в зависимости от сроков развития опухоли. Наблюдалось существенное повышение

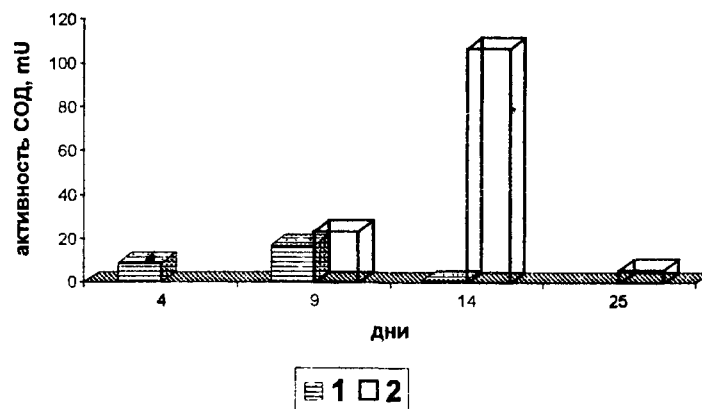


Рисунок 2.

Активность супероксиддисмутазы (mU=мкмоль формазана/мин/мг белка) в процессе роста асцитной карциномы Эрлиха (1) и её солидной формы (2).

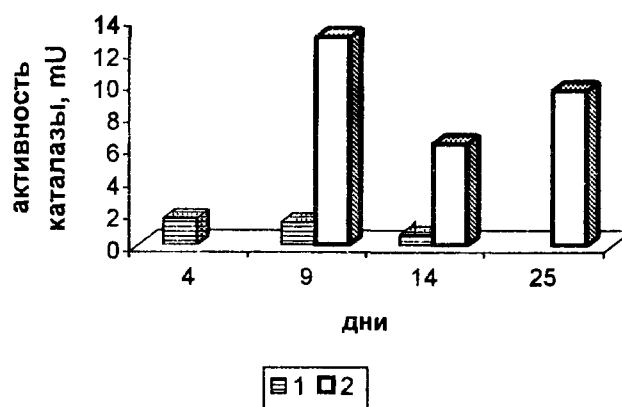


Рисунок 3.

Активность каталазы (mU=ммоль H_2O_2 /мин/мг белка) в процессе роста асцитной карциномы Эрлиха (1) и её солидной формы (2).

активности СОД при переходе клеток из логарифмической фазы в стационарную (в асцитной форме в 2 раза, в солидной форме в 4,85 раза) и ингибирование активности фермента в терминальной фазе как в солидной (в 16 раз), так и в асцитной формах (7,8 раза). Изменение активности каталазы в солидной форме имеет динамику противоположную СОД: фермент имел максимальную активность в фазе логарифмического роста в обеих формах, а в стационарной фазе солидной опухоли ферментативная активность снижается в 2 раза. В солидной форме роста карциномы активность каталазы была в 5-12 раз больше, чем в соответствующих периодах роста асцита.

Поскольку активность исследованных АОФ зависит от содержания супероксидного радикала в клетках, мы сочли нужным включить исследование ксантиноксидазы - фермента, катализирующего образование супероксидного радикала (рис 4). В логарифмическую фазу роста опухоли активность ксантиноксидазы была максимальна (причем, в асците в 1,6 раза больше), затем происходило достоверное снижение активности фермента, и к терминальной фазе - активность ксантиноксидазы снова возрастала.

Наблюдаемые различия в активности АОФ можно объяснить с помощью следующих известных фактов. Сольная карцинома Эрлиха характеризуется более высокой степенью оксигенации по сравнению с асцитом [14]. Молекулярный кислород можно рассматривать как источник супероксидного радикала, поэтому

АНТИОКСИДАНТНЫЕ ФЕРМЕНТЫ В КАРЦИНОМЕ ЭРЛИХА

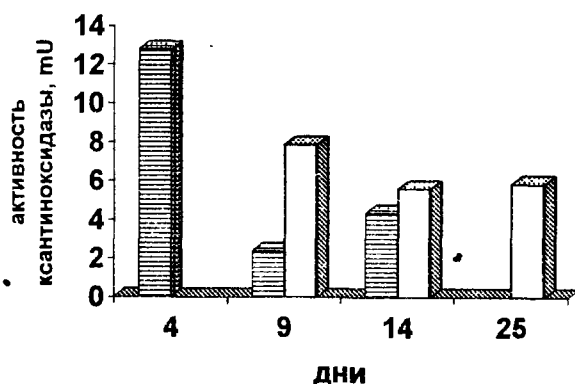


Рисунок 4.

Активность ксантиноксидазы ($\text{mU} = \text{мкмоль формазана/мин/мг белка}$) в процессе роста асцитной карциномы Эрлиха (1) и её солидной формы (2).

низкая активность СОД в асците по сравнению с солидной опухолью, возможно, связана с уменьшением содержания O_2 . Содержание кислорода меняется в зависимости от сроков развития опухолей. Увеличение возраста солидных опухолей сопровождается снижением напряжения кислорода в 1,5 раза, а асцитной - в 2-2,5 раза [22]. Этот факт также может обуславливать изменение активности СОД и каталазы.

В работе Вартанян [11] на клетках регенерирующей печени и по данным Аскаровой [23], полученных в аналогичных исследованиях на клеточной линии *A. laidlawii*, было показано, что скорость генерации радикалов $\text{O}_2^{\cdot -}$ достигает максимума в логарифмическую фазу роста клеток, тогда как активность СОД повышается на более поздних сроках развития клеточной культуры. Возможно, супероксидный радикал необходим для активной пролиферации клеток, о чем свидетельствует возрастание скорости образования супероксидных радикалов в 4-5 раз на стадии максимума митоза [7]. Супероксидный радикал может участвовать в генной экспрессии, а также в разборке и обновлении ядерной мембраны (усиленное радикалообразование характеризует ядерную мембрану в фазе G2) [11]. В наших экспериментах (рис.4) максимальная активность ксантиноксидазы, продуцирующей супероксидный радикал, наблюдалась в логарифмическую фазу. Активность же СОД в этой фазе была минимальной. Промежуточным продуктом реакции дисмутации супероксидного радикала является пероксид водорода, который в клетке разлагается с помощью каталазы. Поэтому высокая активность каталазы в логарифмической фазе роста опухоли, возможно, обусловлена наличием большого количества пероксида водорода, образовавшегося в процессе разложения супероксидного радикала. Снижение активности СОД и увеличение активности каталазы к терминальной фазе может быть обусловлено увеличением накопления пероксида опухолевыми клетками, что и происходит, обычно, в этой фазе роста опухоли [5].

В доступной литературе накоплено значительное количество данных о связи между скоростью пролиферации клеток и активностью СОД. В частности, об этом говорит факт обратной корреляции между скоростью роста гепатом и активностью в них Cu-Zn СОД, полученный на культурах клеток гепатом с различной скоростью пролиферации [24]. Обнаружено снижение активности СОД в ряду: нормальная печень, регенерирующая печень и гепатома [25]. Широкий спектр опухолевых клеток содержит низкие количества Mn-SOD и мРНК для Mn-SOD по сравнению с нормальными клетками, причем наблюдается обратная корреляция между степенью дифференцировки опухолевых клеток и активностью в них фермента [10]. Наиболее низкая активность СОД отмечалась [26] в быстро растущих опухолях, что связывали со снижением активности СОД с накоплением супероксидного радикала на ранних стадиях опухолевого роста, что способствует

малигнизации клеток. Линии опухолевых клеток, обладающие способностью к контактному торможению, характеризуются индукцией СОД в точке остановки пролиферации [27]. Кроме того, существует точка зрения [28], что индукция образования АКМ цитокинами может быть более ранним событием, чем пролиферация. Эти факты согласуются с полученными нами результатами, свидетельствующими о низкой активности СОД в логарифмической фазе роста в обеих формах карциномы Эрлиха, и о повышении активности фермента в стационарной фазе роста. Торможение скорости пролиферации в стационарной фазе роста опухолей, объясняется, по нашему мнению, значительным ростом супероксиддисмутазной активности в этой фазе. Таким образом, СОД, контролируя концентрацию O_2 , может являться одним из регуляторов пролиферативной активности. Существенная разница в активности ферментов в асцитной и солидной формах объясняется скорее всего тем, что асцитная опухоль характеризуется высокой скоростью клеточной пролиферации.

Изменение активности глутатионзависимых ферментов. Активность глутатионзависимых ферментов утилизации липо- и гидропероксидов - глутатионпероксидазы (ГП) и глутатионтрансферазы (ГТ) в клетках асцитной

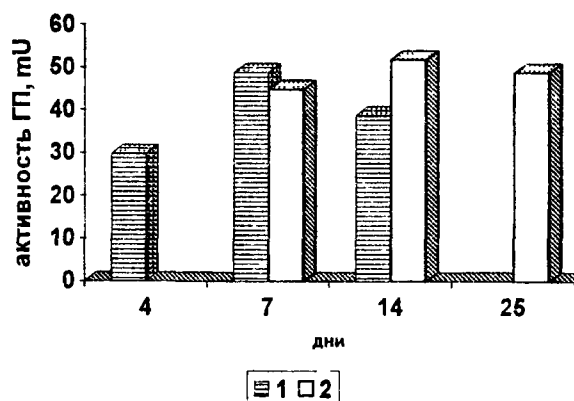


Рисунок 5

Активность глутатионпероксидазы (mU=мкмоль NADPH /мин/мг белка) в процессе роста асцитной карциномы Эрлиха (1) и ее солидной формы (2).

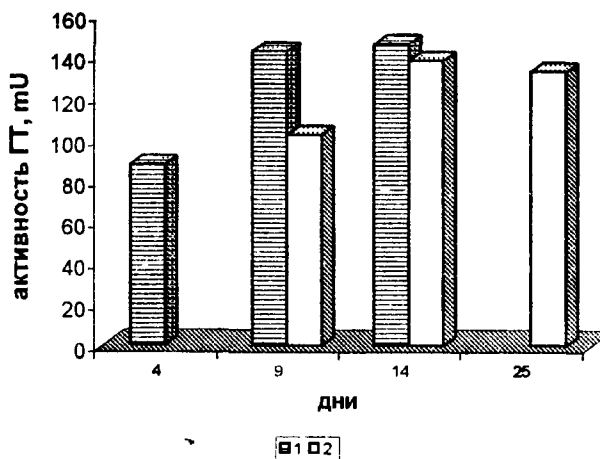


Рисунок 6.

Активность глутатионтрансферазы (mU=мкмоль GSH-1-хлоро-2,4-динитробензола /мин/мг белка) в процессе роста асцитной карциномы Эрлиха (1) и её солидной формы (2).

АНТИОКСИДАНТНЫЕ ФЕРМЕНТЫ В КАРЦИНОМЕ ЭРЛИХА

опухоли в логарифмической фазе роста была значительно ниже по сравнению с другими фазами роста и активностью ферментов в солидной опухоли (рис. 5, 6). В стационарной фазе роста наблюдалось достоверное увеличение активностей того и другого фермента как в солидной, так и в асцитной формах. Мы не зарегистрировали достоверного изменения ферментативной активности в терминальной фазе за исключением глутатионпероксидазы, снижающейся достоверно в асцитной форме. Полученные данные дают основание предположить участие липопероксидов в регуляции скорости роста опухолей наряду с супероксидным радикалом. Зависимость между пролиферативной активностью клеток и активностью ГП и ГТ продемонстрирована на асцитной форме карциномы Эрлиха. Вследствие низкого содержания кислорода в асците ведущую роль в стимуляции пролиферации здесь, возможно, играют органические липопероксиды. Максимум активности глутатионпероксидазы, вероятно, связан со снижением пролиферативной активности в стационарную фазу роста исследованных опухолей. По-видимому, в активно пролиферирующих опухолях ферменты утилизации липопероксидов, так же как и СОД, могут являться регуляторами пролиферации. Такое заключение согласуется с данными Ни и Engman [29], которые, используя миметики ГП, наблюдали снижение числа митозов и увеличение числа межклеточных связей в клетках, ранее преинкубированных стимуляторами пролиферации и опухолевыми промоторами - форболовыми эфирами. Авторы объясняют полученные ими результаты тем, что механизм действия форболовых эфиров и липидных радикалов синергичен при стимуляции клеточной пролиферации. Миметики ГП, снижая содержание гидропероксидов липидов, препятствуют транслокации протеинкиназы С, являющейся одним из внутриклеточных посредников передачи пролиферативного сигнала, из цитозоля в мембраны клеток.

Изменения активности глутатионредуктазы (ГР) (рис. 7) носили противоположный характер в сравнении с ГП и ГТ. В логарифмическую фазу её активность достоверно увеличивалась, а в стационарную - уменьшалась относительно терминальной фазы роста. Глутатионредуктаза поддерживает в клетке пул восстановленного глутатиона. Противоположные изменения

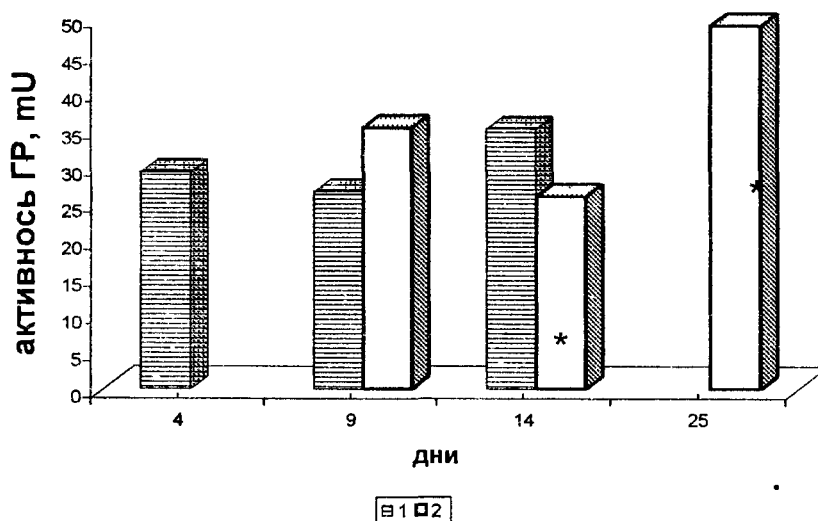


Рисунок 7.

Активность глутатионредуктазы ($mU = \mu\text{моль NADPH} / \text{мин} / \text{мг белка}$) в процессе роста асцитной карциномы Эрлиха (1) и её солидной формы (2).

активности ферментов потребляющих и поставляющих глутатион, свидетельствуют о том, что, по-видимому, в логарифмическую фазу роста опухоли происходит наработка восстановленного глутатиона, который будет окисляться в стационарную фазу. Увеличение же активности глутатионредуктазы в терминальную фазу роста может быть следствием истощения пула восстановленного глутатиона в стационарную фазу роста опухоли.

Таким образом, наши данные подтверждают связь ферментов, утилизирующих кислородные радикалы и липидные пероксиды, с активностью пролиферативных процессов в опухолевых клетках. Активность антиоксидантных ферментов также существенно зависит от структурной организации опухолей.

В литературе широко обсуждается возможность участия как ферментативных, так и неферментативных антиоксидантов в таких важнейших физиологических функциях клеток, как пролиферация и дифференцировка. Активность СОД возрастала в несколько раз при стимуляции дифференцировки клеток [30]. Данные о способности АОФ ингибировать пролиферацию клеток послужили основой для первых опытов применения СОД и миметиков СОД в качестве противоопухолевых средств. В эксперименте была показана регрессия опухолевых культур [7, 27] при трансфекции в них кДНК фермента Мп-СОД. Таким образом, возможность ингибирования пролиферации опухолевых клеток антиоксидантными ферментами открывает перспективу их использования как противоопухолевых средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И. и др. (1991) Свободные радикалы в живых системах. Итоги науки и техники. Биофизика. Т. 29. ВИНТИ, Москва.
2. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Шергин С.М. (1994) Биохимия окислительного стресса. Оксиданты и антиоксиданты. Новосибирск.
3. Борунов Е.В., Смирнова Л.П., Щепеткин И.А., Ланкин В.З., Васильев Н.В. (1989) Бюлл. экпер. биол. мед., №4, 41-43.
4. Lee W-P., Lee C-L., Lin H-C. (1996) Cancer Chemother. Pharmacol., **38** №4 45-51.
5. Пескин А.В. (1997) Биохимия, **62**, 1571-1578
6. Kondakova I., Peiretti F., Nalbone G., Lafont H. (1995) Biochim. Biophys. Acta, **1258**, 297-302.
7. Burdon R. H. (1995) Free Rad. Biol. Med., **18**, 775-795.
8. Gamberini M., Leite L. C. (1997) Biochem. Biophys. Res. Commun., **234**, 44-47.
9. Бурлакова Е.В., Гаинцева Е.Л., Мальцева В.Д. (1983) Экспериментальная онкология, **5**, 1-7.
10. Oberley T.D., Oberley L.W. (1988) Molec. Cell. Biochem., **8**, 147-153.
11. Вартамян Л. С., Садовникова И.П., Гуревич С.М. (1992) Биохимия, **57**, 671-678.
12. Grigolo B., Lisignoli G., Toneguzzi S., Mazzetti I., Facchini A. (1998) Anticancer. Res. **18**, 1175-1180.
13. Казьмин С.Р., Колосов Е.В. (1979) Вопросы онкологии, **7**, 60-64.
14. Шапот В.С. (1975) Биохимические аспекты опухолевого роста, Наука, Москва.
15. Beers R.F., Sizer J.W. (1952) J. Biol. Chem., **195**, 133-140.
16. Littel C., O'Brien P.J. (1968) Biochem. Biophys. Res. Commun., **31**, 145-150.
17. Keen J.H., Habing W.H., Jakoby W.B. (1976) J. Biol. Chem., **251**, 6183-6188.
18. Carbery J., Mannervic B. (1975) J. Biol. Chem., **250**, 5475-5480.
19. Вартамян Л.С., Гуревич С.М. (1982) Вопр. мед. химии, **28** (5), 23-26.

АНТИОКСИДАНТНЫЕ ФЕРМЕНТЫ В КАРЦИНОМЕ ЭРЛИХА

20. Бабичаев М.А., Савов В. М., Казан В.Е. (1983) Бюлл. exper. биол. мед., **11**, 47-49.
21. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.H., Randall R.J. (1951) J. Biol. Chem., **193**, 265-275.
22. Амосов И.С., Караулов Р.К., Сазонова Н.А. (1984) Радиобиология, **24**, 630-635.
23. Аскарова Э.А., Камитонов А.Б., Кольтовер В.К. (1980) Биофизика, **32**, 95-99.
24. Bartolli G., Minotti G., Borello S., et al. (1983) Oxy radicals and the scavenger systems, **41**, 179-209.
25. Bartkowiak A., Bartkowiak J. (1981) Comp. Biochem. Physiol. **70B**, 819-820.
26. Подберезкина Н.Б., Осинская Л.Ф. (1989) Укр. биохим. ж. **61**, 14-27.
27. Oberley T., Schultz S., Li N. (1995) Free Rad. Biol. Med. **19**, 53-65.
28. Matsubara T., Ziff M. (1986) Immunol., **132**, 908-914.
29. Hu J., Engman L., Cotgreave I. (1995) Carcinogenesis, **16**, 1815-1824.
30. Lim R., Zaheer A., Kraakevik J.A., Darby C.J., Oberley L.M. (1998) Neurochem. Res., **23**, 1445-1451

Поступила 05.02 2002

DEPENDENCE OF ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITIES ON PROLIFERATIVE RATE AND TISSUE ORGANIZATION OF EHRlich's CARCINOMA

L. P. Smirnova, I.V. Kondakova

Institute of Oncology, Tomsk Research Center, Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences, per. Kooperativny 5, Tomsk 634009, Russia; fax: (3822)224097, e-mail: oncology@info.tsu.ru

Antioxidant enzymes (AOE) may be considered as possible regulatory factors of tumor cell proliferation. Enzyme levels were examined in Ehrlich's carcinoma in ascitic and solid forms differed in proliferative rate. Antioxidant enzyme activities depended on cancer tissue organization. Studies of enzyme activities at different phases of tumor growth showed reduction of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and glutathione transferase activities at the logarithmic phase and an increase of the activities at the confluent phase. These data confirm the suggestion about a rise in intracellular content of oxygen radicals at logarithmic growth and possibility of active oxygen metabolic involvement in the regulation of cell proliferation.

Key words: tumor cells proliferation, antioxidant enzymes, Ehrlich's carcinoma.