

Р. Ф. ПОЛИЩУК, В. П. БЕРИЯ, Ю. П. КОЗЛОВ

О ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВАХ ЛИПИДОВ ПРИ ИНДУЦИРОВАННОМ ХИМИЧЕСКОМ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

(Представлено академиком А. Н. Белозерским 8 V 1970)

Исследования последних лет указывают на изменения характера свободнорадикальных реакций, сопровождающих предраковое состояние ⁽¹⁾. Интерес к изучению свободнорадикальных механизмов химического канцерогенеза связан с тем, что в живом организме процессы переноса электронов, обратимого окисления и восстановления ферментативных реакций протекают с образованием весьма активных свободнорадикальных состояний Н. М. Эмануэль и сотрудники ⁽²⁾ выдвинули гипотезу, согласно которой свободные радикалы играют ведущую роль как в первичном механизме канцерогенеза, перерождения нормальной клетки в опухолевую, так и в процессе роста и развития злокачественного новообразования.

Ряд авторов ⁽³⁻⁵⁾ показали, что развитие злокачественной опухоли в тканях животного опухоленосителя сопровождается нарушением окислительных процессов и баланса ингибиторов — антиокислителей, выражающимся в сдвиге динамического равновесия между выработкой и расходом ингибиторов свободнорадикальных реакций, имеющих место при окислительных процессах. Последнее нашло подтверждение в работах ^(6, 7), показавших соответствующие изменения антиокислительной активности липидов ряда органов животных при злокачественном росте. Предполагается, что природные антиокислители играют одну из важных ролей в механизме регулирования роста клеток ⁽⁸⁾. Нарушение этого механизма канцерогенами приводит к изменению закономерностей митотического деления клеток, что указывает на важность изменения антиокислительной активности при канцерогенезе.

Целью настоящей работы явилось исследование физико-химических особенностей липидов и липорастворимых соединений, как наиболее чувствительного субстрата к различным воздействиям на ранних стадиях химического канцерогенеза. В качестве канцерогенного агента использовался гепатотропный канцероген 2-аминоацетилфлуорен (2-ААФ). Канцероген вводился с перегретым подсолнечным маслом, которое ускоряет развитие опухоли в 1,5—2 раза и по отношению к печени выступает как активатор действия 2-ААФ ⁽⁹⁾. Ряд авторов приписывают перегретому маслу коканцерогенное действие ⁽¹⁰⁾.

Материалом для работы служили крысы весом 100—120 г линии Вистар. 2-ААФ вводили при помощи зонда в пищевод 6 раз в неделю в количестве 3,9 мг на крысу. Опыт проводили на трех сериях крыс. Первой серии крыс вводили 2-ААФ с перегретым подсолнечным маслом со степенью окисления 3,3—3,5%; второй серии — 2-ААФ со свежим нерафинированным маслом со степенью окисления 0,25—0,28%; третью серию — контрольных крыс — кормили только перегретым маслом. Степень окисления масла определяли по модифицированной методике Фаррона ⁽¹¹⁾.

Животных забивали декапитацией в разные сроки после введения канцерогена и быстро на холоду извлекали печень. Печень гомогенизировали, и экстракцию липидов осуществляли на холоду по методу Фолча ⁽¹²⁾.

Антиокислительную активность (ао.а.) липидов и липорастворимых веществ определяли методом электрохемилюминесценции (э.х.л.). Для наблюдения свечения использовали электролитическую ячейку с двумя платиновыми электродами. Система электролиза состояла из насыщенно-

го раствора лимоннокислого натрия в метаноле. Электролиз проводили при постоянном стабилизированном токе 3 ма и напряжении 13 в, что позволило в течение длительного времени поддерживать постоянство условий инициирования и рекомбинации свободных радикалов. Свечение регистрировалось стандартной квантометрической установкой с ФЭУ-42. Суммарную фракцию липидов вводили в ячейку в концентрации 0,5 мг/мл. Критерием ао.а. служила величина ингибирующей активности, определяемая по формуле $\ln A = (I_0 - I)/I_0$, где I_0 — интенсивность э.х.л. системы метанол — цитрат натрия; I — свечение после добавления ингибитора.

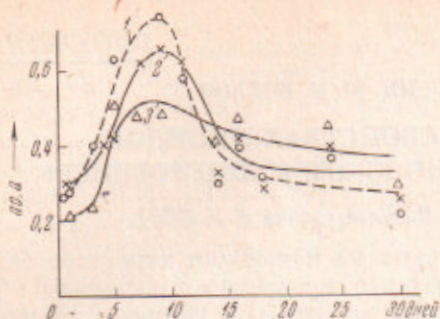


Рис. 1. Изменение ао.а. липидов печени крыс при введении 2-ААФ с перегретым маслом (1), 2-ААФ со свежим маслом (2) и перегретого масла (3)

Продукты перекисления липидов определяли методом полярографии с ртутнокапельным электродом (14). В качестве фона использовали 0,1 N КОН. О количестве компонентов судили по высоте дифференциальной полярограммы.

Изменение суммарного содержания семихинонов в липидах печени определяли методом э.п.р. на модифицированном спектрометре типа ЭПР-2 ИХФ АН СССР (рабочая длина волны 3,2 см, отражательная схема).

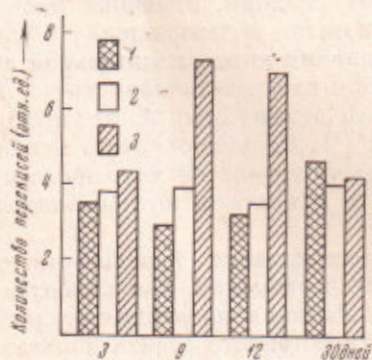


Рис. 2

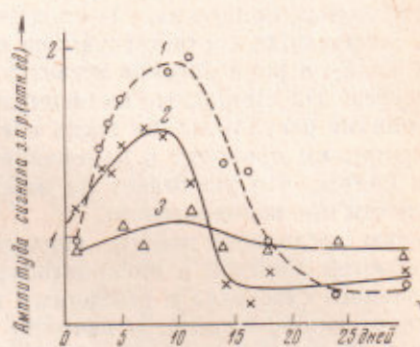


Рис. 3

Рис. 2. Накопление перекисей в липидах печени на ранних стадиях канцерогенеза. Обозначения те же, что на рис. 1

Рис. 3. Кинетика изменения концентрации семихинонов в липидах печени. Обозначения те же, что на рис. 1

Все эксперименты проведены параллельно на опытных и контрольных животных.

В результате исследования была установлена определенная закономерность в кинетике изменения ао.а. липидов печени животных. Наблюдается увеличение их ао.а. в первые же дни после введения 2-ААФ. До.а. липидов печени крыс достигает своего максимального значения на 8—9 сутки после начала кормления. Характерно, что величина ао.а. липидов печени крыс, вскармливаемых 2-ААФ с перегретым маслом, выше, чем ао.а. липидов печени крыс, вскармливаемых 2-ААФ со свежим маслом (рис. 1). В дальнейшем наблюдается уменьшение ао.а., при этом она к 14 дню падает до уровня ао.а. липидов животных, вскармливаемых чистым перегретым маслом, без канцерогена. Изменение ао.а. липидов хорошо коррелирует с количественным содержанием перекисей в липидах, определяемых

методом полярографии. Четко наблюдается повышение содержания перекисей на 8—9 сутки в липидах печени крыс, питавшихся только перегретым маслом, и их минимальное содержание у крыс, питавшихся перегретым маслом с 2-ААФ (рис. 2. Примечательно, что количество гидроперекисей уменьшается сразу же после введения канцерогена.

Изменению ао.а. липидов печени животных соответствует нарушение стационарного уровня концентрации семихинонных свободных радикалов. В липидах печени был обнаружен интенсивный сигнал э.п.р. с четко выраженной сверхтонкой структурой (ст.с.), состоящий из 9 компонент с константой ст.с. 1,1 э, амплитуда, следовательно и концентрация семихинонов, менялась соответственно изменению их ао.а., достигая своего максимума в те же сроки с последующим спадом (рис. 3).

Интересно отметить превышение уровня количества продуктов свободнорадикального окисления у животных, питавшихся 2-ААФ с перегретым маслом, над уровнем этих же продуктов у животных, питавшихся 2-ААФ со свежим маслом. Можно полагать, что перегретые масла, способствующие разобщению процессов свободнорадикальной регуляции на ранних этапах, способствуют ускорению возникновения опухоли и обладают, таким образом, коканцерогенным действием. Известно, что печень является органом, где происходит метаболизм 2-ААФ (¹⁵, ¹⁶), в результате чего 2-ААФ превращается в очень сильный канцероген *N*-окси-2-ААФ. Этот процесс *N*-гидроксилирования является общей особенностью метаболизма ароматических аминов в организме животных, у которых эти соединения вызывают рак. Крамер и Суган полагают, что процесс *N*-гидроксилирования может стимулироваться окисленными перегретыми маслами, что связано с образованием перекисных и карбонильных групп при их окислении. Такая стимуляция доказана *in vitro* (¹⁰). Исходя из наших данных, усиление канцерогенного действия 2-ААФ перегретым маслом в организме происходит за счет увеличения содержания свободных радикалов в липидах и липорастворимых соединениях печени.

Представленный экспериментальный материал может, по-видимому, служить свидетельством того, что глубокие биохимические сдвиги, вызванные действием канцерогена 2-ААФ, уже на ранних этапах связаны с нарушением регуляции свободнорадикальных реакций и нормального распределения антиоксидантов в клетке. Видимо, эти изменения, определяющие понятие предрака, могут возникать ранее морфологических изменений и характеризуют собой преобладание процессов возбуждения на раннем этапе процесса канцерогенеза, а в последующем — процессов торможения.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступило
4 V 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ A. Haddom, Growth, 11, 339 (1947). ² Н. М. Эмануэль, Л. П. Липчина, ДАН, 121, № 4, 141 (1958). ³ А. И. Журавлев, Сверхслабое свечение и антиокислительные свойства биологических систем, МГУ, Автореф. докторской диссертации, 1966. ⁴ Б. Н. Тарусов, Радиобиология, 7, 65, 670 (1967). ⁵ Е. Б. Бурлакова, Биофизика, 12, в. 1, 82 (1967). ⁶ Б. Н. Тарусов, И. И. Иванов и др., Свободнорадикальные процессы в биологических системах, М., 1966, стр. 211. ⁷ В. М. Бобр, Ю. П. Козлов, Б. Н. Тарусов, Докл. АН БССР, 13, № 2, 173 (1969). ⁸ Е. Б. Бурлакова, К. М. Молочкина, Биофизика, 13, в. 3, 443 (1968). ⁹ М. Я. Вышеславова, Вопр. онкол., 15, № 4, 66 (1969). ¹⁰ M. Sugai, L. Witting et al., Cancer Res., 22, 510 (1962). ¹¹ В. П. Ржехин, Н. И. Паганкина, Маслобойно-жировая пром., № 10, 6 (1958). ¹² J. Folch, M. Lees, G. H. S. Stanley, J. Biol. Chem., 226, № 2, 497 (1957). ¹³ З. Я. Балтбардзыс, О механизме образования и действия липидных токсических веществ при лучевом поражении животных, Автореферат, МГУ, 1967. ¹⁴ E. Miller, J. Cramer, J. Miller, Cancer Res., 20, 950 (1960). ¹⁵ E. Miller, J. Miller, H. Hartmann, Cancer Res., 21, 815 (1961). ¹⁶ Г. М. Беджер, Химические основы канцерогенной активности, М., 1966.