

УДК 616—006—092.9:611.814.1

В. Б. Винницкий, Ю. П. Шмалько

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ ОБЛАСТИ ЗАДНИХ ГИПОТАЛАМИЧЕСКИХ ЯДЕР НА ЭКСКРЕЦИЮ КАТЕХОЛАМИНОВ С МОЧОЙ И РАЗВИТИЕ ДМБА ИНДУЦИРОВАННЫХ ОПУХОЛЕЙ У КРЫС

В литературе имеются данные о ведущей регуляторной роли гипоталамуса в развитии иммунных [10, 16] и противоопухолевых защитных реакций [2, 4, 8, 12, 13]. Ранее нами было показано, что электростимуляция области задних гипоталамических ядер у животных с трансплантированными опухолями приводит к активации иммунологической реактивности и выраженному противоопухолевому эффекту [5]. Электростимуляция указанной области гипоталамуса сопровождается, в частности, активацией деятельности симпато-адреналовой системы [1, 6], которая, как показано в последнее время, является важным эфферентным звеном регуляции иммунных реакций [14].

Мы исследовали состояние симпато-адреналовой системы у крыс в процессе ДМБА индуцированного канцерогенеза и влияние на эту систему электростимуляции области задних гипоталамических ядер.

Методика исследований

Опыты проведены на 140 крысах-самцах породы Вистар весом 200—250 г. Животные были разделены на три группы. Крысам I ($n=70$) и II ($n=50$) групп в мышцу бедра вводили 9,10-диметил-1,2-бензантрацен (ДМБА) в дозе 3 мг в 0,2 мл абрикосового масла. Через три месяца после введения канцерогена крысам II группы вживили биполярные электроды в гипоталамус и провели 25 ежедневных сеансов электростимуляции. Животные III группы не подвергались таким воздействиям и служили контролем.

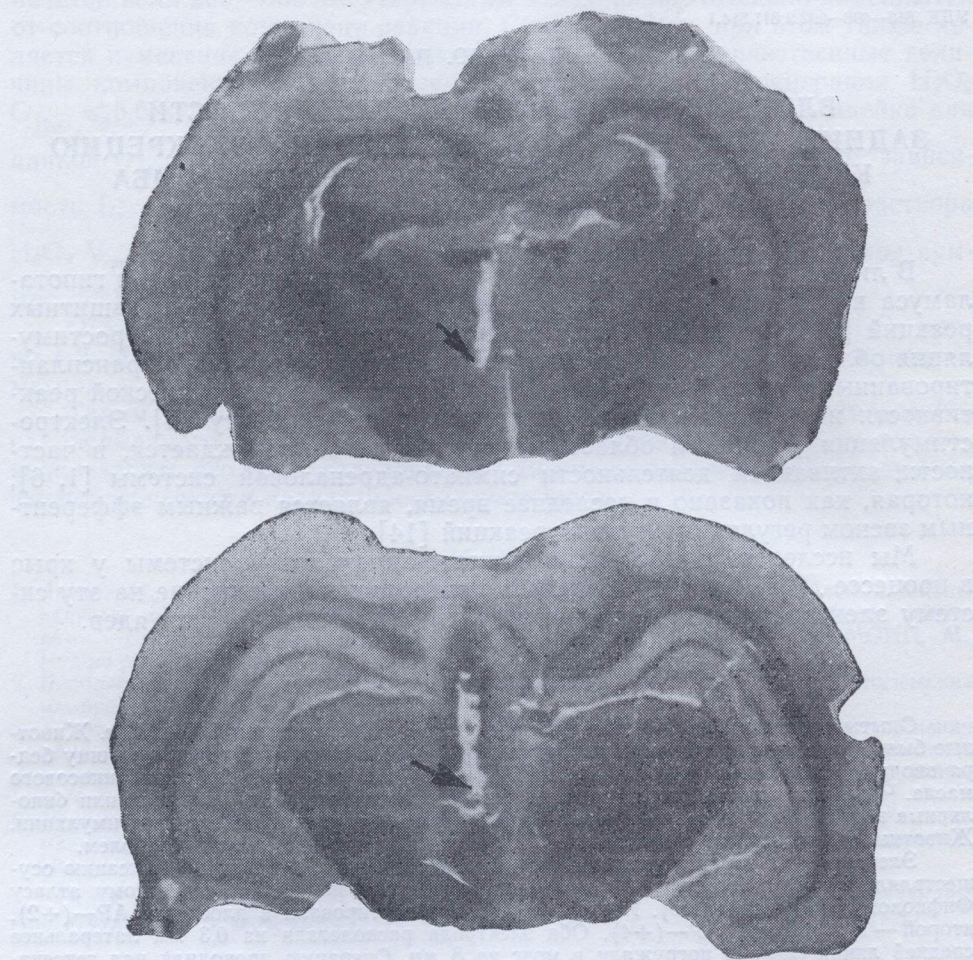
Электроды на черепе крепили с помощью протакрила. Жесткую их фиксацию осуществляли по [3]. Координаты электродов определяли по стереотаксическому атласу Фифковой и Маршалла [15]. Первый электрод ориентировали в плоскости AP—(+2), второй — в плоскости AP—(+4). Оба электрода располагали на 0,3 мм латеральнее средней линии слева и погружали в мозг на 8 мм. Операцию проводили под гексеновым наркозом. Таким образом, электростимуляции подвергались ядерные структуры заднего гипоталамуса, расположенные между электродами. По окончании опыта проводили морфологический контроль локализации электродов (см. рисунок).

Стимуляцию гипоталамуса, которую начинали через 7—12 дней после вживления электродов, производили с помощью ЭСУ-1 пороговым током (индивидуальную величину тока определяли по поведенческим реакциям животного), прямоугольными импульсами переменной полярности длительностью 1 мс, напряжением 1—2 В, частотой 80 имп/с ежедневно по 5 мин.

Для оценки состояния симпато-адреналовой системы у животных изучали суточную экскрецию с мочой ДОФА, биосинтетического предшественника катехоламинов, дофамина, норадреналина, адреналина и основного метаболита их — ванилилминдальной кислоты (ВМК). ДОФА и катехоламины (их свободные и связанные формы) определяли по [11]. ВМК — по [7]. Экскретируемые вещества у крыс I группы определяли через 30, 60, 90, 120 и 150 дней после введения канцерогена, а у крыс II группы — после 3, 10, 17 и 25 сеансов электростимуляции. Результаты исследований представлены в табл. 1 и 2. Полученные данные обрабатывали методом вариационной статистики. Различия считали достоверными при $p<0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение

Через 1 месяц после введения канцерогена наблюдалось достоверное снижение экскреции с мочой конъюгатов дофамина при нормальном выделении его свободных форм (табл. 1). На второй месяц канцерогенеза происходило снижение выделения ДОФА и конъюгированных форм адреналина, по-прежнему была снижена экскреция конъюгатов дофамина.



Фотография фронтальных срезов мозга крысы.

а — АР (+2), б — АР (+4). Стрелкой указано место электролитического разрушения, соответствующее локализации кончика электрода в гипоталамусе. Увеличено в пять раз.

Экскреция же свободного норадреналина, напротив, резко повысилась (в три раза), достоверно увеличилось и выделение ВМК.

Таким образом, этот период (первый—второй месяцы канцерогенеза) характеризуется активацией симпато-адреналовой системы, протекающей с повышенным использованием норадреналина на фоне замедленного инактивирования свободных форм адреналина и дефицита предшественников этих катехоламинов — ДОФА и дофамина. Этот дефицит объясняется повышенным синтезом норадреналина и свидетельствует о состоянии напряжения.

На третий месяц после введения канцерогена наблюдается почти полная нормализация всех исследуемых показателей. Характерно, что эта нормализация происходит в период, непосредственно предшествующий образованию опухолей. Повышенной остается экскреция свободного норадреналина, однако, выведение ВМК не отличается от наблюдаемого у контрольных животных. В данном случае не приходится говорить об активации симпато-адреналовой системы.

Период появления опухолей (четвертый месяц после введения канцерогена) характеризуется повторной активацией симпато-адреналовой системы. Высокий уровень экскреции свободного норадреналина наблюдается на фоне усиления процессов инактивирования катехоламинов — повышенной экскреции ВМК и конъюгированных форм норадреналина — и истощения запасов биосинтетических предшественников (ДОФА и дофамина), что свидетельствует о резком повышении высвобождения норадреналина нервными окончаниями. Развитие дисбалансных отношений между уровнем предшественников и катехоламинов носило выраженный характер — происходило снижение не только экскреции конъюгатов дофамина, но и его свободных форм.

На пятый месяц канцерогенеза у большинства обследуемых крыс наблюдалась некротизация опухолевой ткани. В этот период отмечалось повышение экскреции катехоламинов при замедлении процессов их обмена (при достоверно повышенной экскреции дофамина, адреналина и норадреналина выделение ВМК не изменялось по сравнению с контролем). Эти изменения, по-видимому, отражают углубление морфо-функциональных нарушений симпато-адреналовой системы. На этой стадии опухолевого роста возможны также вторичные дисметаболические расстройства деятельности системы, возникающие при токсическом повреждении печени, в которой содержатся ферменты, необходимые для метаболических превращений катехоламинов.

Полученные данные свидетельствуют о глубоких изменениях в деятельности симпато-адреналовой системы (особенно ее медиаторного звена) при ДМБА индуцированном канцерогенезе. Эти изменения являются следствием, по всей вероятности, как функционально-приспособительной перестройки в нервной системе в ответ на введение канцерогена и появление опухоли, так и снижения адаптационно-защитных возможностей организма при нарастании морфо-функциональных нарушений, возникающих в разных звеньях нейро-гуморальной системы при прогрессивном росте опухолей [5]. Изменение обмена катехоламинов носит фазовый характер. I фаза характеризуется повышением интенсивности обмена катехоламинов и развивается, по-видимому, в ответ на токсическое действие канцерогена. После периода нормализации показателей наблюдается II фаза активации деятельности симпато-адреналовой системы у животных в период появления опухолевых очагов. Эти изменения являются реакцией на уже сформировавшиеся опухоли и носят адаптационно-защитный характер. Однако, развиваясь в период прогрессивного роста опухолей, эта реакция не приводит к противоопухолевому эффекту.

На поздних стадиях опухолевого роста наступает III фаза изменений, характеризующаяся снижением функциональной активности симпато-адреналовой системы.

По-видимому, наиболее ответственным периодом, когда определяется судьба опухоли в организме, является период, непосредственно предшествующий формированию опухолевых узлов. Таким периодом в используемой модели канцерогенеза является третий месяц после введения канцерогена. В этот срок крысы II группы были подвергнуты

Таблица 1
Экскреция адреналина, норадреналина, ДОФА, дофамина и ВМК в мкг/сутки у крыс в процессе ДМБА индуцированного канцерогенеза ($M \pm m$; p)

Срок после введения ДМБА	ДОФА	Дофамин		Адреналин		Норадреналин		ВМК
		свободный	конъюгированный	свободный	конъюгированный	свободный	конъюгированный	
1 месяц $n=14$; p	$0,76 \pm 0,12$ $>0,1$	$5,02 \pm 0,45$ $>0,05$	$3,83 \pm 0,54$ $<0,001$	$0,25 \pm 0,02$ $>0,1$	$0,19 \pm 0,01$ $>0,1$	$1,04 \pm 0,25$ $>0,1$	$0,77 \pm 0,13$ $>0,1$	$18,9 \pm 2,9$ $>0,1$
2 месяца $n=14$; p	$0,52 \pm 0,08$ $<0,02$	$6,05 \pm 0,64$ $>0,1$	$7,55 \pm 0,78$ $<0,001$	$0,22 \pm 0,02$ $>0,1$	$0,14 \pm 0,01$ $<0,01$	$2,26 \pm 0,18$ $<0,001$	$0,51 \pm 0,11$ $>0,1$	$42,6 \pm 3,0$ $<0,001$
3 месяца $n=14$; p	$0,75 \pm 0,08$ $>0,1$	$6,34 \pm 1,11$ $>0,1$	$12,65 \pm 1,77$ $>0,1$	$0,23 \pm 0,02$ $>0,1$	$0,20 \pm 0,01$ $>0,1$	$1,85 \pm 0,33$ $<0,01$	$0,39 \pm 0,09$ $>0,1$	$36,5 \pm 4,4$ $>0,05$
4 месяца $n=14$; p	$0,59 \pm 0,06$ $<0,01$	$3,62 \pm 0,79$ $<0,01$	$5,30 \pm 0,90$ $<0,001$	$0,21 \pm 0,03$ $>0,1$	$0,13 \pm 0,01$ $<0,001$	$1,99 \pm 0,24$ $<0,001$	$1,39 \pm 0,19$ $<0,001$	$50,8 \pm 9,3$ $<0,02$
5 месяцев $n=14$; p	$1,18 \pm 0,15$ $>0,1$	$2,46 \pm 0,77$ $<0,001$	$9,66 \pm 0,63$ $<0,01$	$0,33 \pm 0,03$ $<0,02$	$0,23 \pm 0,01$ $<0,01$	$1,68 \pm 0,41$ $<0,05$	$0,88 \pm 0,17$ $>0,1$	$35,1 \pm 5,4$ $>0,1$
Контроль $n=20$	$0,91 \pm 0,09$	$7,60 \pm 1,17$	$12,88 \pm 0,86$	$0,24 \pm 0,02$	$0,19 \pm 0,01$	$0,78 \pm 0,13$	$0,65 \pm 0,13$	$26,5 \pm 3,1$

Таблица 2
Экскреция адреналина, норадреналина, ДОФА, дофамина и ВМК в мкг/сутки при электростимуляции области задних гипоталамических ядер у крыс с ДМБА индуцированным канцерогенезом ($M \pm m$; p)

Сезансы электростимуляции	ДОФА	Дофамин		Адреналин		Норадреналин		ВМК
		свободный	конъюгированный	свободный	конъюгированный	свободный	конъюгированный	
3 сеанса $n=14$; p	$1,12 \pm 0,17$ $>0,1$	$6,11 \pm 1,35$ $>0,1$	$11,08 \pm 1,73$ $>0,1$	$0,43 \pm 0,05$ $<0,05$	$0,23 \pm 0,03$ $>0,1$	$1,01 \pm 0,38$ $>0,1$	$1,07 \pm 0,14$ $>0,05$	$47,6 \pm 5,6$ $<0,01$
10 сеансов $n=14$; p	$0,71 \pm 0,19$ $>0,1$	$7,24 \pm 1,49$ $>0,1$	$11,01 \pm 2,79$ $>0,1$	$0,25 \pm 0,04$ $>0,1$	$0,13 \pm 0,02$ $>0,1$	$1,25 \pm 0,40$ $>0,1$	$0,87 \pm 0,32$ $>0,1$	$39,4 \pm 8,9$ $>0,1$
17 сеансов $n=14$; p	$0,62 \pm 0,07$ $>0,1$	$7,90 \pm 1,39$ $>0,1$	$11,65 \pm 2,42$ $>0,1$	$0,31 \pm 0,03$ $>0,1$	$0,14 \pm 0,01$ $>0,1$	$2,47 \pm 0,33$ $<0,001$	$0,67 \pm 0,20$ $>0,1$	$90,0 \pm 14,3$ $<0,001$
25 сеансов $n=14$; p	$0,84 \pm 0,11$ $>0,1$	$6,82 \pm 0,98$ $>0,1$	$6,82 \pm 0,66$ $<0,01$	$0,33 \pm 0,05$ $>0,1$	$0,15 \pm 0,01$ $>0,1$	$2,31 \pm 0,58$ $<0,05$	$0,38 \pm 0,10$ $>0,1$	$28,5 \pm 7,5$ $>0,1$
Контроль $n=20$	$0,93 \pm 0,19$	$6,20 \pm 1,21$	$12,51 \pm 1,38$	$0,26 \pm 0,05$	$0,18 \pm 0,02$	$0,79 \pm 0,19$	$0,64 \pm 0,18$	$23,8 \pm 5,4$

электростимуляции гипоталамуса. После третьего сеанса стимуляции наблюдалось повышение экскреции свободной фракции адреналина, которое носило кратковременный характер (табл. 2). После 10 сеансов показатели обмена катехоламинов не отличались от наблюдаемых у здоровых животных. В этот период экскреция свободной фракции норадреналина у стимулированных крыс была достоверно ниже, чем у животных I группы. После 17 сеанса стимуляции экскреция норадреналина повысилась до уровня, наблюдаемого у животных I группы; однако, резко увеличилось и выделение ВМК. После 25 сеансов электростимуляции снизилось выделение конъюгатов дофамина, экскреция свободного норадреналина по-прежнему не отличалась от наблюдаемой у крыс I группы, но превышала экскрецию этого катехоламина у здоровых животных, выделение ВМК не отличалось от контрольных показателей.

Таким образом, электростимуляция области задних гипоталамических ядер у крыс с индуцируемыми опухолями привела к выраженному усилению обмена катехоламинов (в первые три недели стимуляции). Через пять месяцев после введения канцерогена количество животных с опухолями во II группе (стимулированные крысы) составляло 26,4%, в III группе (нестимулированные крысы) — 61,7%. Можно полагать, что активация симпато-адреналовой системы с помощью трансгипоталамических воздействий на этапах канцерогенеза, непосредственно предшествующих появлению опухолевых очагов, сопровождается своевременным развитием в организме комплекса защитных противоопухолевых реакций, обуславливающих противоопухолевый эффект.

Выводы

1. Развитие ДМБА индуцированного канцерогенеза у крыс сопровождается изменением обмена катехоламинов, носящим фазовый характер. I фаза активации обмена развивается на токсическое действие канцерогена, II — наблюдается в ранний период опухолевого роста. На поздних этапах канцерогенеза происходит снижение функциональной активности симпато-адреналовой системы.

2. Электростимуляция области задних гипоталамических ядер у крыс в период, предшествующий появлению опухолевых очагов, вызывает активацию обмена катехоламинов и повышение противоопухолевой резистентности организма.

Литература

1. Алешин Б. В. Гистофизиология гипоталамо-гипофизарной системы. М., 1971. 439 с.
2. Балицкий К. П., Винницкий В. Б., Такайшвили К. А., Уманский Ю. А. О роли гипоталамуса в формировании противоопухолевой резистентности. — Вопросы онкологии, 1976, 22, № 4, с. 69—75.
3. Бордюшков Ю. Н. Вживление в головной мозг крыс электродов и канюль для внутримозговых инъекций. — Физиол. журн. СССР, 1967, 57, № 10, с. 1238—1240.
4. Бордюшков Ю. Н. О торможении роста индуцированных опухолей путем воздействия на гипоталамус. — Вопросы онкологии, 1968, 14, № 12, с. 55—59.
5. Винницкий В. Б. Влияние электростимуляции гипоталамуса на развитие карциномы Брауна—Пирса у кроликов. — В кн.: Опухоль и организм, К., 1973, с. 73—75.
6. Гращенко Н. И. Гипоталамус. Его роль в физиологии и патологии. М., 1964. 366 с.
7. Дибобес Г. К., Большакова Т. Д. К методике определения ванилилминдальной и гомованилиновой кислот с помощью хроматографии на бумаге. — Лабор. дело, 1972, № 4, с. 221—223.
8. Дильман В. М. Развитие учения о роли нейро-эндокринной системы в патогенезе рака. — Вопросы онкологии, 1967, 13, № 10, с. 39—48.
9. Кавецкий Р. Е., Балицкий К. П., Корневский Л. И., Левчук Г. А., Ручковский Б. С., Сизенко С. П., Туркевич Н. М. Опухолевый процесс и нервная система. К., 1958. 292 с.

10. Корнева Е. А. Неврогенное подавление и стимуляция иммунологических процессов.— В кн.: Моделирование заболеваний. М., 1973, с. 36—46.
11. Матлина Э. Ш., Киселева З. М., Софиева И. Э. Метод определения адреналина, норадреналина, ДОФА и дофамина в одной порции мочи.— В кн.: Методы определений некоторых гормонов и медиаторов. М., 1965, вып. 3, с. 25—32.
12. Такайшвили К. А. Влияние разрушения сосочковых тел срединного возвышения гипоталамуса на напряженность иммунитета к опухоли Брауна—Пирса у кроликов.— Автореф. канд. дис. К., 1971. 16 с.
13. Уколова М. А. Роль нейро-эндокринных нарушений в патогенезе опухолей яичников. М., 1972. 248 с.
14. Фролов Е. П. Нейрогуморальные механизмы регуляции иммунологических процессов. М., 1974. 260 с.
15. Fífkova E., Marshall I. Stereotaxic podkerových struktur mozku krysy, kralika a kocky. Praha, Statni Zdravotnicke Nacla, detesti, 1960. 53 s.
16. Stein M., Schiavi R. C., Camerino M. Influence of brain and behavior on the immune system.— Science, 1976, 191, p. 435—440.

Институт проблем онкологии
АН УССР, Киев

Поступила в редакцию
24.II 1977 г.

V. B. Vinnitskiy, Ju. P. Shmal'ko

ELECTROSTIMULATION EFFECT OF POSTERIOR HYPOTHALAMIC NUCLEI AREA ON INDEXES OF CATECHOLAMINES METABOLISM AND DEVELOPMENT OF DMBA-INDUCED TUMOURS IN RATS

Summary

Investigations with the Wistar rats showed that the DMBA-induced carcinogenesis growth is followed by a change in catecholamine metabolism which is of a phase character. The phase of metabolism activation develops on the toxic carcinogen action and (after a short-term period of normalization) during the early stages of the tumour growth. At the late stages of carcinogenesis the functional activity of the sympatho-adrenal system decreases. The electrostimulation of the rat posterior hypothalamic nuclei areas in the period before the appearance of the tumour foci induces the catecholamine metabolism activation and increase of the antitumour resistance in the organism.

Institute of Oncology Problems,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev