

УДК 612.014.462

Я. И. Гонский

ДИНАМИКА ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА В ТКАНЯХ БЕЛЫХ КРЫС В ПРОЦЕССЕ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА

Многочисленные исследования, выполненные за последние годы, свидетельствуют о том, что в организме-опухоленосителе происходят значительные изменения химизма тканей, затрагивающие все виды метаболизма и порождающие трудности в биохимической диагностике рака [2, 6, 9, 10]. Это вызывает необходимость в специфических, характерных для злокачественного роста биохимических тестах для сопоставления отдельных, связанных между собой показателей [1, 5, 7].

Нам представлялось целесообразным в условиях эксперимента изучить такие показатели, которые в наиболее общей форме отображают энергетику организма и его систем. К ним относится окислительно-восстановительный потенциал (ОВП) и напряжение кислорода (P_{O_2}), органов и тканей. ОВП избран в качестве теста для сравнения химизма при моделировании злокачественного роста в связи с нарушением тканевого дыхания, изменением образования макроэргов; а окислительно-восстановительный потенциал дает возможность оценивать энергетику биологических систем в наиболее общей форме, отражая соотношение всех окислительных систем — ферментов, небιологических катализаторов окисления и соответствующих биосубстратов. Этой же цели служит и P_{O_2} как один из важных показателей энергетических процессов в тканях. Сопоставляя ОВП и P_{O_2} в тканях и органах удастся установить определенный тип корреляционных взаимоотношений между ними, указывающих на интенсивность и направленность окислительно-восстановительных процессов в организме [11, 12].

Учитывая важность информации, которую можно получить, используя метод прижизненного измерения ОВП и P_{O_2} , а также почти полное отсутствие литературных данных о состоянии этих показателей в тканях здоровых животных и при воздействии на них различных факторов, целью нашего исследования было изучение ОВП и P_{O_2} в некоторых жизненно важных органах и тканях и сопоставление их с такими же показателями у животных, пораженных карциномой Герена.

Методика исследований

Эксперименты проводили на белых беспородных крысах-самцах шестимесячного возраста, содержащихся на обычном рационе вивария. Всего в опытах использовано 100 животных, из которых 20 контрольных и 80 пораженных карциномой Герена. Исследования проводили на 10, 15, 20, 25, 30-й дни после имплантации опухоли, которую осуществляли по общепринятой методике с использованием суспензии раковых клеток в физиологическом растворе. Рост опухоли обнаруживался на восьмой — девятый дни (крысы, у которых опухоль не обнаруживалась, в опыт не включали).

ОВП определяли потенциометрически с использованием рН-метра ЛПУ-01 в качестве милливольтметра с высокоомным входным сопротивлением [8]. Перед началом работы рН-метр градуировали с помощью имитатора И-01. Измерительным служил платиновый электрод, изготовленный в виде иглы, диаметром 0,3 мм и изолированный

стеклянной оправой. Цифровой материал, полученный при определении ОВП и P_{O_2} подвергали вариационно-статистической обработке [4]. P_{O_2} измеряли хроноамперометрически с использованием полярографа ПА-3 [3].

Результаты исследований

Представленные в табл. 1 результаты экспериментов показывают, что ОВП исследованных органов и тканей здоровых крыс различен. Наибольшая величина ОВП обнаружена в мышцах животных ($-116 \pm 1,6$ мВ), наименьшая — в печени ($-218 \pm 3,9$ мВ). Почки и селезенка по величине ОВП занимают промежуточное положение.

Таблица 1

Динамика окислительно-восстановительных потенциалов (мВ) в тканях и органах крыс в процессе роста карциномы Герена

Дни эксперимента	Статистические показатели	Печень	Селезенка	Почки	Мышцы	Опухоль
Норма	$M \pm m^*$	$218 \pm 3,9$	$179 \pm 1,4$	$178 \pm 2,2$	$116 \pm 1,6$	$*116 \pm 1,6$
	n	10	10	10	10	10
10	$M \pm m$	$210 \pm 5,2$	$177 \pm 6,4$	$175 \pm 1,9$	$137 \pm 7,7$	$203 \pm 4,2$
	n	8	8	8	8	8
	p	$>0,2$	$>0,5$	$>0,2$	$<0,05$	$<0,001$
15	$M \pm m$	$248 \pm 3,8$	$177 \pm 3,6$	$170 \pm 6,5$	$146 \pm 1,8$	$199 \pm 4,2$
	n	8	8	8	8	8
	p	$<0,01$	$>0,5$	$>0,2$	$<0,001$	$<0,001$
20	$M \pm m$	$205 \pm 1,1$	$206 \pm 1,4$	$197 \pm 2,9$	$178 \pm 2,5$	$215 \pm 1,8$
	n	8	8	8	8	8
	p	$<0,01$	$<0,001$	$<0,01$	$<0,001$	$<0,001$
25	$M \pm m$	$252 \pm 1,7$	$187 \pm 1,6$	$164 \pm 2,4$	$162 \pm 1,8$	$235 \pm 2,4$
	n	8	8	8	8	8
	p	$<0,01$	$<0,01$	$<0,02$	$<0,001$	$<0,001$
30	$M \pm m$	$255 \pm 1,8$	$192 \pm 1,8$	$167 \pm 1,9$	$165 \pm 2,2$	$238 \pm 1,7$
	n	8	8	8	8	8
	p	$<0,001$	$<0,001$	$<0,02$	$<0,001$	$<0,001$

* ОВП всех исследований органов и тканей имеет отрицательное значение по отношению к каломельному электроду. Для удобства знак около цифрового материала не ставится. Сравнивали ОВП опухоли и мышц здоровых крыс.

Опухолевый рост в организме крыс, как видно из приведенной таблицы, вызывает значительные изменения изучаемого показателя. Так, в мышцах животных с имплантированной карциномой Герена на протяжении всех дней исследования (10—30-й дни) вольтаж редокспотенциала был ниже, чем у здоровых животных. Наименьшая величина ОВП в мышцах животных-опухоленосителей отмечена на 20 и 30-й дни со времени прививки карциномы (соответственно на 53 и 42 % ниже нормы).

Обращает на себя внимание постепенное нарастание электронегативности в мышцах с развитием опухоли, что свидетельствует о постепенном увеличении содержания восстановителей и восстановленных компонентов в мышечной ткани с развитием злокачественного образования. Можно думать, что накопление этих продуктов в организме при злокачественном росте должно играть немаловажную роль в процессе развития заболевания. В частности, если допустить, что основным про-

дуктом среди восстановителей, накапливающихся в мышцах при карциноме Генера, является молочная кислота или другие недоокисленные продукты гликолиза, то следует ожидать подкисления межклеточной жидкости мышечной ткани, что должно повлечь за собой изменение в деятельности ферментных систем.

В печени крыс-опухоленосителей отмечено снижение редокспотенциала по сравнению с нормой на 15, 25, 30-й дни имплантации. На 10 и 20-й дни вольтаж ОВП превышал регистрируемый у здоровых животных. Таким образом, в печени подопытных животных с 10-го по 30-й день опыта не наблюдалось постоянного преобладания одних компонентов окислительно-восстановительных процессов над другими. Можно полагать, что в печени, как центральной метаболической лаборатории организма, на 10-й день после имплантации опухоли происходит активация и накопление за счет синтеза и поступления из других систем организма окислительных компонентов, которые должны принять участие в окислении образованных в других тканях в избытке восстановителей, действующих токсически на весь организм. В последующем такая же компенсаторная мобилизация всех окислительных ресурсов в печени наблюдалась еще на 20-й день опыта. Но в конце эксперимента (25, 30-й дни) печень становилась насыщенной восстановителями.

Относительно меньше изменены окислительно-восстановительные системы в селезенке при опухолевом росте. Такое утверждение можно сделать при сопоставлении ОВП селезенки в процессе развития опухоли в организме с зарегистрированным у здоровых животных. Так, на 10 и 15-й дни после имплантации опухолей величина потенциала селезенки практически находилась на уровне здоровых животных. Только во второй половине месяца после прививки карциномы наступало незначительное снижение ОВП в селезенке, максимум которого наблюдался на 20-й день (15 % ниже нормы). Различие статистически достоверное.

Своеобразные изменения ОВП были установлены в почках животных-опухоленосителей. Как видно из приведенной табл. 1, почки экспериментальных животных в большинстве дней исследования имели более электропозитивный редокспотенциал, чем у здоровых животных. Только на 20-й день после имплантации опухоли величина ОВП в почках была уменьшена. Тенденция к увеличению ($p > 0,05$; 10, 15-й день) или увеличение (25, 30-й день) в почках животных с привитой опухолью, по-видимому, имеет определенный биологический смысл, сущность которого следует рассматривать с точки зрения соотношений окисленных и восстановленных компонентов тканей организма. Не исключено, что преобладание окисленных форм в этом выделительном органе в процессе роста имплантированной опухоли является защитной реакцией, направленной на окисление молочной кислоты и других восстановленных продуктов, образующих в избытке в процессе роста злокачественного новообразования. Подтверждением этой мысли, нам кажется, может служить динамика ОВП в самой опухолевой ткани, для которой характерно постепенное снижение (негативация) потенциала, свидетельствующее о преобладании восстановительных компонентов. При этом наименьшая величина ОВП в опухоли наблюдалась в конце опыта, когда в ней появляются выраженные элементы распада.

Проведенные исследования показывают, что при росте имплантированной карциномы Генера в тканях организма происходят существенные изменения редокспотенциалов, имеющие в своей основе нарушения соотношений окисленных и восстановленных компонентов. Постоянное сохранение на пониженном уровне величины ОВП в мышцах, печени,

опухоли, а также селезенке на 20—30-й дни эксперимента указывает на то, что в этих тканях при опухолевом росте наблюдается преобладание восстановителей и восстановленных компонентов. Эти продукты являются результатами рассогласованного действия окислительно-восстановительных систем организма. Для нормализации этих систем организм мобилизует все свои компенсаторные системы, проявлением чего, по-видимому, может служить увеличение ОВП в почках и в печени на 10 и 20-й дни, а также сохранение его на относительно мало измененном уровне в селезенке.

Таблица 2

Динамика напряжения кислорода (мм рт. ст.) в тканях и органах крыс в процессе развития карциномы Герена

Дни эксперимента	Статистические показатели	Печень	Селезенка	Почки	Мышцы	Опухоль
Норма	$M \pm m$	$45 \pm 1,9$	$42 \pm 2,2$	$42 \pm 2,0$	$30,8 \pm 0,7$	$*30,8 \pm 0,7$
	n	11	11	11	11	11
10	$M \pm m$	$36,9 \pm 1,3$	$33,8 \pm 1,1$	$32,3 \pm 1,1$	$27,2 \pm 0,9$	$17,9 \pm 0,9$
	n	8	8	8	8	8
	p	$<0,02$	$<0,02$	$<0,01$	$<0,02$	$<0,001$
15	$M \pm m$	$42,7 \pm 2,4$	$40,8 \pm 2,3$	$42,9 \pm 1,6$	$22,9 \pm 0,7$	$16,9 \pm 0,4$
	n	8	8	8	8	8
	p	$>0,2$	$>0,5$	$>0,2$	$<0,001$	$<0,001$
20	$M \pm m$	$35,2 \pm 2,0$	$36,5 \pm 1,3$	$36,1 \pm 1,2$	$24,1 \pm 0,9$	$18,5 \pm 1,4$
	n	8	8	8	8	8
	p	$<0,02$	$<0,05$	$<0,05$	$<0,01$	$<0,001$
25	$M \pm m$	$32,8 \pm 1,4$	$30,2 \pm 0,9$	$32,4 \pm 1,8$	$21,6 \pm 0,5$	$16,2 \pm 0,5$
	n	8	8	8	8	8
	p	$<0,01$	$<0,01$	$<0,02$	$<0,001$	$<0,001$
30	$M \pm m$	$31,4 \pm 0,5$	$24,2 \pm 1,2$	$29,6 \pm 1,2$	$19,8 \pm 1,2$	$16,5 \pm 0,7$
	n	8	8	8	8	8
	p	$<0,01$	$<0,001$	$<0,01$	$<0,001$	$<0,001$

* Сравнивали P_{O_2} в опухоли и в здоровой мышечной ткани.

Об изменении окислительно-восстановительного равновесия в организме при опухолевом росте свидетельствует и другой использованный нами показатель — напряжение кислорода. Как известно, уровень P_{O_2} в тканях представляет собой алгебраическую сумму поступления кислорода с кровью, потребления его тканями и (зависящей от них) интенсивности тканевого дыхания.

В норме, как видно из табл. 2, наиболее высокий уровень P_{O_2} установлен в печени крыс (45 мм рт. ст.). Незначительно ниже P_{O_2} в селезенке и почках. В мышцах здоровых крыс P_{O_2} составляет в среднем $30,8 \pm 0,7$ мм рт. ст. Таким образом, в наиболее высоко функционирующих в биологическом отношении тканях парциальное давление растворенного кислорода повышено.

В процессе малигнизации степень обеспеченности и использования кислорода тканями существенно меняется. На 10-й день после имплантации опухоли в печени крыс установлено снижение P_{O_2} на 18 % по отношению к норме. В последующие 20, 25, 30-й дни P_{O_2} в печени постепенно снижается, достигая минимального уровня на 30-й день опыта

(на 31 % ниже нормы). Еще более существенное снижение P_{O_2} установлено в селезенке крыс. Так, если на 10-й день роста карциномы P_{O_2} в селезенке было снижено на 20 % против нормы, то в конце месяца оно было уменьшено на 42 %. Снижение P_{O_2} на протяжении всего эксперимента наблюдалось в почках и мышцах крыс с имплантированной карциномой.

Наиболее низкий уровень P_{O_2} среди исследованных тканей был зафиксирован в опухолевой ткани. Если изменение P_{O_2} в опухоли сравнивать с наблюдаемым в мышечной ткани, как наиболее родственной с опухолевой тканью, то по отношению к мышцам P_{O_2} в опухоли почти в два раза ниже на протяжении всех дней исследования.

Таким образом, приведенные результаты исследования показывают, что опухолевый рост в организме крыс приводит к снижению напряжения кислорода во всех исследованных органах и тканях. В меру прогрессирования бластоматоза снижение P_{O_2} усиливается. Это дает основание считать правомерным, что обнаруженное снижение P_{O_2} в тканях является проявлением общей гипоксидации организма, связанной с накоплением в тканях недоокисленных восстановителей и восстановленных компонентов, сопутствующих росту в организме имплантированной карциномы.

Литература

1. Бабенко Г. О. Визначення мікроелементів і металоферментів у клінічних лабораторіях.— К.: Здоров'я, 1968.— 136 с.
2. Белоусова А. К. Биохимические подходы к химиотерапии опухолей.— Л., 1965.— 394 с.
3. Березовский В. А. Электрохимические и биологические особенности хроноамперометрического определения кислорода.— В кн.: Полярографическое определение кислорода в биологических объектах. К.: Наукова думка, 1968, с. 98—103.
4. Деркач М. П. Елементи статистичної обробки результатів біологічного експерименту.— Львів, 1963.— 67 с.
5. Кавецкий Р. Е. Роль нарушений регуляторных механизмов в развитии опухолевого процесса.— В кн.: Онкология. К., 1972, в. 3, с. 2—7.
6. Касьяненко И. В., Кульская О. А. Микроэлементы крови у больных раком внутренних органов.— В кн.: Онкология. К., 1972, в. 3, с. 87—90.
7. Петяев М. М. Биофизические подходы к диагностике злокачественных опухолей.— М.: Медицина, 1972.— 238 с.
8. Сумаруков Г. В. Окислительное равновесие и радиочувствительность организма.— М.: Наука, 1970.— 136 с.
9. Тарусов Б. Н. Роль липидных систем в механизме канцерогенеза.— В кн.: Физико-химические механизмы злокачественного роста. М.: Наука, 1970, с. 214—218.
10. Шапот В. С. О некоторых биохимических аспектах взаимоотношения опухоли и организма.— В кн.: Проблемы медицинской химии. М.: Медицина, 1973, с. 184—221.
11. Шаргородский Б. М., Расторгуев Б. П. Изменение и динамическая регистрация окислительно-восстановительного потенциала миокарда животных.— Биофизика, 1965, 10, № 4, с. 652—655.
12. Шаргородский Б. М., Расторгуев Б. П., Райскина М. Я. Динамика окислительно-восстановительных процессов в сердце в острой стадии экспериментального инфаркта миокарда.— Биофизика, 1967, 12, № 1, с. 114—119.

Кафедра медицинской химии
Ивано-Франковского медицинского института

Поступила в редакцию
1.XI 1978 г.