

ЛИНДА КИЛЬДЕМА, ЛУУЛЕ ТЕРАС, РЕЙН БИРК

АКТИВНОСТЬ ГЕКСОКИНАЗ И ДЕГИДРОГЕНАЗ ПЕНТОЗОФОСФАТНОГО ПУТИ В ТКАНИ ПЕЧЕНИ КРОЛИКОВ ПРИ ВВЕДЕНИИ ДИЭТИЛНИТРОЗАМИНА

Из канцерогенных нитрозосоединений наиболее полно в сравнительной онкологии изучены свойства N,N-диэтилнитрозамина (ДЭНА). Введением ДЭНА индуцированы опухоли, главным образом гепатомы, у крыс (Argus, 1961; Druckrey, Schmähl, 1962; Швембергер, 1963), мышей (Schmähl и др., 1963; Швембергер, 1965), золотистых хомячков (Dontenwill, Mohr, 1961), морских свинок (Druckrey, Steinhoff, 1962), обезьян (O'Gara, Kelly, 1965), кроликов (Rapp и др., 1965; Thomas, Schmähl, 1965), собак (Schmähl и др., 1964). По данным морфологических исследований (Thomas, Schmähl, 1965), скорость развития опухолей зависит не только от дозы и способа введения ДЭНА, но и от вида животных. Например, у крыс и мышей малигнизация под воздействием ДЭНА развивается относительно быстро, в то время как индукция опухолей у кроликов и некоторых других животных при таких же дозах ДЭНА на единицу веса происходит гораздо медленнее.

Сравнительное изучение канцерогенного действия ДЭНА на отдельные виды животных ограничивалось в основном морфологическими и токсикологическими аспектами. Биохимические особенности, развивающиеся в малигнизирующихся тканях при введении ДЭНА, изучены мало. Так как ДЭНА обладает органотропным действием на печень, представляет интерес исследовать динамику биохимических изменений в ткани печени на разных этапах канцерогенеза у отдельных видов животных, а также сопоставить биохимические показатели с данными морфологического анализа. По работам Г. Зюдова и соавторов (Sydow, 1964; Sydow, Horn, 1965; Sydow, Sydow, 1965), у крыс и мышей при введении ДЭНА в предопухолевой стадии в ткани малигнизирующейся печени повышается скорость гликолиза и активность его ключевого фермента гексокиназы, а активность глюкокиназы понижается. При этом было отмечено, что в малигнизирующейся ткани биохимические сдвиги, особенно при кратковременном введении больших доз канцерогена с последующим прекращением введения препарата, часто имели обратимый характер (Sydow, Horn, 1965). По данным Б. Рубенчика и М. Плисса (Рубенчик, Плисс, 1968), биохимические изменения, в частности изменения активности ферментов обмена глюкозо-6-фосфата и особенно дегидрогеназы глюкозо-6-фосфата, у крыс появляются в ткани малигнизирующейся печени уже задолго до возникновения опухолей, вызванных введением п-диметиламиноазобензола (ДАБ).

По нашим данным (Кильдема, Терас, 1969), в ткани печени крыс и мышей, которым вводили ДЭНА, изменения активности гексокиназы и глюкокиназы, а также фруктокиназы появляются уже на ранних этапах канцерогенеза. Динамика активности гексокиназы в течение канцерогенеза у крыс и мышей существенно не различается.

Биохимических исследований ткани печени при относительно медленной скорости развития малигнизации, как, например, отмечено у кроликов, мы в литературе не встречали. Учитывая различные скорости развития диэтилнитрозаминного канцерогенеза у отдельных видов животных, целесообразно обратить внимание и на биохимические сдвиги, связанные с видовыми особенностями животных.

В настоящей работе представлены результаты изучения активности гексокиназы (ГК; КФ 2.7.1.1), глюкокиназы (ГЛК; КФ 2.7.1.2) и фруктокиназы (ФК; КФ 2.7.1.3) в растворимой фракции (надосадочной жидкости) и в митохондриях, а также активности дегидрогеназы глюкозо-6-фосфата (Г-6-ФДГ; КФ 1.1.1.49) и 6-фосфоглюконата (ФГДГ; КФ 1.1.1.44) в растворимой фракции из ткани печени кроликов при длительном введении ДЭНА.

Методика

Опыты проводились на кроликах (самцах) весом, в начале опыта, 1,5—3,0 кг. ДЭНА (синтезирован в Институте химии АН Эстонской ССР) вводили подопытным животным в виде 0,1% водного раствора зондом в пищевод из расчета 2,5 мг на 1 кг веса тела 6 раз в неделю в течение 8 месяцев. За этот период кролики получили в среднем 1463 мг ДЭНА на каждое животное. С конца третьего до конца десятого месяца через каждый месяц у одной группы животных (4—6 кроликов) определялась активность ГК, ГЛК и ФК в растворимой и митохондриальной фракциях, а активность Г-6-ФДГ и ФГДГ — в растворимой фракции из ткани печени. Ткань для исследования бралась из обеих (правой и левой) долей печени и исследовалась отдельно. Ткань печени подвергалась также и гистологическому исследованию*. Препараты окрашивались гематоксилин-эозином по van Gieson и Mallori.

Для выделения клеточных фракций 1 г ткани (отдельно из правой и левой доли) печени гомогенизировали 10-кратным объемом раствора, содержащего 0,05 М трис-НСI буфера, 0,15 М КСI, 0,001 М ЭДТА, рН 7,8. Гомогенат центрифугировали в течение 10 мин на холоде при 900 g для отделения ядер и клеточных обломков. Из надосадочной жидкости центрифугированием при 12 000 g в течение 10 мин получили 2 клеточные фракции: растворимую (гиалоплазму, содержащую микросомы) и митохондриальную. Осадок митохондрий дважды промывали центрифугированием и суспендировали в 3—4 мл того же раствора.

Активность ГК и ГЛК определялась спектрофотометрически по скорости восстановления добавленного НАДФ (Salas и др., 1963); методика определения приведена в одной из наших предыдущих работ (Кильдема, Терас, 1969). Активность ФК определялась по убыли фруктозы методом, предложенным Ч. Кюйпером (Kuiper, 1959) и описанным нами ранее (Кильдема, Терас, 1969) в присутствии избытка глюкозы. Фруктоза определялась резорциновым методом на спектрофотометре (Hildmann, 1963), активность Г-6-ФДГ и ФГДГ — методом Г. Глок и П. Мак-Лин (Glock, McLean, 1953) при 25°C с той лишь разницей, что НАДФ в инку-

* Гистологические исследования проводились заведующим сектором онкологии Института экспериментальной и клинической медицины МЗ ЭССР кандидатом медицинских наук Г. Лоогна.

бационную среду добавлялась в большей концентрации — 0,25 мг на 1 мл инкубационной смеси (McLean, Brown, 1966).

Активность ГК, ГЛК, Г-6-ФДГ и ФГДГ выражалась в микромолях НАДФ, а активность ФК — в микромолях фруктозы на 1 мг белка (удельная активность) или на 1 г сырого веса ткани печени в 1 ч.

Количество белка в клеточных фракциях определялось методом О. Лоури (Lowry и др., 1951).

Для оценки результатов исследования применялся *t*-тест.

Результаты и обсуждение

По данным табл. 1, где приведены результаты изучения активности гексокиназ и дегидрогеназ пентозофосфатного пути в клеточных фракциях из ткани печени здоровых кроликов, следует, что в клетках нор-

Таблица 1

Активность ГК, ГЛК, ФК, Г-6-ФДГ и ФГДГ в клеточных фракциях из ткани печени контрольных кроликов

Фермент	Число опытов	Активность ферментов					
		мкмоль/мг белка · ч			мкмоль/г ткани · ч		
		Правая доля	Левая доля	<i>P</i>	Правая доля	Левая доля	<i>P</i>
Растворимая фракция							
ГК	15	0,05±0,002	0,05±0,004	—	4,4±0,08	4,5±0,05	>0,8
ГЛК	15	0,14±0,03	0,14±0,02	—	11,9±1,7	12,0±2,0	>0,9
ФК	15	1,38±0,25	1,33±0,15	>0,8	113,6±8,3	118,1±10,6	>0,7
Г-6-ФДГ	13	0,49±0,05	0,46±0,05	>0,6	42,8±5,9	38,6±5,6	>0,6
ФГДГ	13	0,87±0,04	0,90±0,04	>0,6	76,2±6,5	77,4±4,8	>0,9
Митохондриальная фракция							
ГК	15	0,08±0,01	0,07±0,01	>0,9	0,34±0,07	0,30±0,03	>0,8
ГЛК	15	0,03±0,01	0,02±0,01	>0,8	0,12±0,04	0,10±0,05	>0,8
ФК	15	1,13±0,11	1,04±0,10	>0,8	4,20±0,40	4,20±0,40	—

мальной печени активность ГК, ГЛК и ФК распределена неравномерно между растворимой и митохондриальной фракциями. Так, удельная активность ГК в митохондриях примерно в 1,5 раза выше, чем в растворимой фракции. Однако, так как на долю митохондрий приходится только небольшая часть из общего содержания белка клетки, то при расчете активности фермента на сырой вес ткани выясняется, что лишь 6—7% из общей активности ГК клетки находится в митохондриях. Из табл. 1 явствует также, что специфический для фосфорилирования глюкозы фермент ГЛК в клетках печени кролика находится в основном в растворимой фракции. Так, удельная активность этого фермента в митохондриях в 4,5—7 раз меньше, чем в растворимой фракции (при расчете на сырой вес ткани печени с митохондриями связан лишь 1% общей активности ГЛК клетки).

Привлекает внимание относительно высокая по сравнению с ГК и ГЛК активность ФК в клеточных фракциях печени кроликов, при этом величины удельной активности ФК как в митохондриальной, так и в растворимой фракциях близки друг другу. При расчете активности на 1 г ткани оказалось, что около 3% активности фермента клетки приходится на митондрии. Примерно такое же распределение активности ФК между растворимой и митохондриальной фракциями нами было установлено ранее и в ткани печени крыс и мышей (Ильин и др., 1968).

Относительно высокие показатели активности Г-6-ФДГ и ФГДГ в растворимой фракции (табл. 1) указывают на существенное значение пентозофосфатного пути в обмене клеток печени у этого вида животных. При этом, как показали наши опыты, свежeweделенные митохондрии не обладают активностью Г-6-ФДГ и ФГДГ.

По мнению некоторых авторов (Фишер, 1961), гемодинамические особенности отдельных долей печени, в частности печени человека, могут оказать влияние на происходящие в них патологические процессы, в том числе и на возникновение метастаз рака. Учитывая это, мы определяли активность ферментов также и в опытах с введением ДЭНА по отдельности в ткани обеих долей печени. Однако как в нормальной печени, так и в печени животных, получивших ДЭНА, существенной разницы в активности изученных ферментов разных долей печени обнаружено не было.

Морфологические изменения в ткани печени кроликов при введении ДЭНА развивались относительно медленно. Если, например, у крыс и мышей при применении такой же дозы ДЭНА (2,5 мг/кг веса) первые очаги гепатом появились уже на пятом месяце введения препарата, а на восьмом месяце в большинстве случаев в ткани печени отмечались вполне развившиеся гепатомы (Кильдема, Терас, 1969), то у кроликов даже в конце десятого месяца типичных гепатом еще не наблюдалось. Однако некоторые изменения, указывающие на вероятное развитие в дальнейшем опухолей печени, можно было в последние месяцы введения ДЭНА установить и у них. Так, с 6—7-го месяца в печени появились клеточные очаги диаметром 100—200 микрон. В последние месяцы (9—10-й) опыта часть этих очагов имела крупные размеры — 200—300 микрон, некоторые из которых приобрели округлую форму и были четко отграничены. У одного животного на десятый месяц отмечался узел диаметром 2 мм, имеющий частично характерное строение трабекулярной гепатомы.

В динамике активности изученных ферментов отмечались при введении ДЭНА сдвиги, которые по времени появления можно разделить на две группы. Во-первых, уже через 3—4 месяца после введения канцеро-

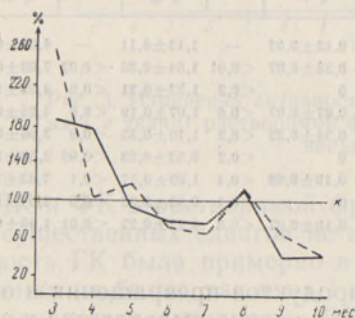


Рис. 1. Изменения активности ФК (выраженные на 1 г ткани) растворимой фракции ткани печени кроликов при введении ДЭНА. На этом и следующих рисунках: к — контроль, сплошная линия — правая, пунктир — левая доля печени.

гена в активности ферментов наблюдались временные сдвиги в сторону их повышения. Особенно четко наблюдались они в активности ФК. Так, в конце третьего месяца активность ФК в растворимой фракции была примерно в 2—2,5 раза выше контроля (рис. 1; ввиду того, что изменения активности ФК и всех других изученных ферментов при расчете на 1 мг белка и на 1 г ткани были аналогичны, на рисунках представлены только показатели активности на 1 г ткани). Заметное повышение активности ФК отмечалось также в митохондриальной фракции (табл. 2). В конце третьего и особенно четвертого месяца наблюдалось значительное повышение активности Г-6-ФДГ (рис. 2) как при выражении на 1 мг белка (1,5—2 раза), так и на 1 г ткани (около 1,5 раза). Изменения у остальных ферментов были менее заметными. Только в митохондриаль-

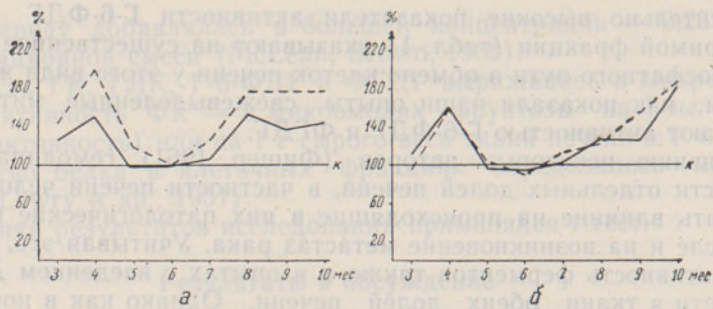


Рис. 2. Изменения активности Г-6-ФДГ (а) и ФДГ (б) (выраженные на 1 г ткани) растворимой фракции ткани печени кроликов при введении ДЭНА.

ной фракции активность ГК и ГЛК оказалась повышенной как при расчете на 1 мг белка, так и на 1 г ткани (табл. 2). Временное повышение активности гекокиназ в первые месяцы введения ДЭНА наблюдалось нами и у других животных (Кильдема, Терас, 1969). Можно предположить, что такое «начальное» повышение активности ферментов при введении ДЭНА является отражением токсического действия ДЭНА на ферментные процессы клетки. При этом не исключена возможность

Таблица 2

Активность ГК, ГЛК и ФК в митохондриальной фракции ткани правой доли печени кроликов

Время исследования	Число опытов	ГК				ГЛК				ФК			
		мкмоль/мг белка · ч		мкмоль/г ткани · ч		мкмоль/мг белка · ч		мкмоль/г ткани · ч		мкмоль/мг белка · ч		мкмоль/г ткани · ч	
			P		P		P		P		P		P
Контроль	15	0,08±0,01	—	0,33±0,07	—	0,03±0,01	—	0,12±0,03	—	1,13±0,11	—	4,20±0,40	—
3-й месяц	4	0,15±0,02	<0,05	0,60±0,01	<0,05	0,09±0,02	<0,01	0,38±0,07	<0,01	1,64±0,38	<0,02	7,08±0,52	<0,01
4-й "	4	0,19±0,08	<0,05	0,43±0,22	<0,6	0	<0,3	0	<0,2	1,32±0,21	<0,9	4,95±1,59	<0,4
5-й "	4	0,16±0,03	<0,02	0,65±0,18	<0,1	0,01±0,01	<0,4	0,07±0,07	<0,6	1,07±0,19	<0,8	4,25±0,78	>0,9
6-й "	5	0,17±0,03	<0,01	0,48±0,07	<0,3	0,09±0,06	<0,2	0,34±0,23	<0,2	1,16±0,35	<0,9	3,06±0,28	<0,2
7-й "	5	0,14±0,07	<0,2	0,47±0,23	<0,2	0	<0,3	0	<0,2	0,53±0,23	<0,05	2,58±1,41	<0,2
8-й "	5	0,17±0,05	<0,01	1,21±0,33	<0,01	0,02±0,01	<0,6	0,19±0,08	<0,4	1,09±0,17	<0,1	7,43±1,30	<0,01
9-й "	4	0,04±0,02	<0,2	0,15±0,08	<0,3	0	<0,2	0	<0,1	0,93±0,33	<0,5	3,94±1,61	>0,9
10-й "	6	0,09±0,03	<0,8	0,24±0,09	<0,5	0,04±0,02	<0,7	0,10±0,07	<0,8	0,22±0,27	<0,01	1,40±0,58	<0,01

индуцирующего влияния ДЭНА или его продуктов превращения в организме на активность ферментов. Это предположение выдвигается в соответствии с данными М. Крицман и А. Кониковой (1968), утверждающими, что почти все канцерогенные вещества, вызывающие малигнизацию тканей, способны индуцировать ферменты в нормальной ткани. В дальнейшем же индуцирующее действие канцерогенов уже не проявляется ввиду развития малигнизации или адаптации печени к действию канцерогена.

Как уже было сказано, после «начального» повышения к концу пятого месяца наблюдалась тенденция к нормализации активности ферментов. Следует отметить, что в период нормализации активности ферментов (в конце 5—6-го месяца) содержание белка в растворимой фракции было ниже контрольных величин, составляя около $\frac{4}{5}$ активности нор-

Таблица 3

Содержание белка в растворимой фракции ткани печени кроликов

Время исследования	Число опытов	Содержание белка, мг/г ткани			
		Правая доля	P	Левая доля	P
Контроль	13	88±3	—	85±5	—
3-й месяц	4	81±2	>0,05	79±5	>0,05
4-й "	4	91±5	>0,05	94±1	>0,05
5-й "	5	73±5	<0,05	68±4	<0,05
6-й "	5	70±5	<0,01	69±5	<0,05
7-й "	5	83±3	>0,05	81±2	>0,05
8-й "	5	89±6	>0,05	87±3	>0,05
9-й "	5	89±5	>0,05	82±8	>0,05
10-й "	6	87±3	>0,05	81±4	>0,05

мальной печени (табл. 3). В то же время в активности ферментов при выражении на 1 г ткани изменений (по сравнению с нормой) не отмечалось. В удельной же активности, в частности удельной активности ГЛК, а также ФК, появились тенденции к их изменению, которые на следующих стадиях опыта приобретали все более определенный характер (рис. 1, 3). В конце седьмого месяца появились заметные сдвиги в активности

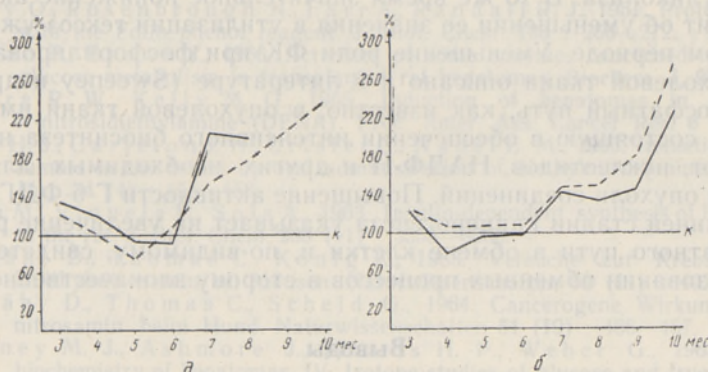


Рис. 3. Изменения активности ГК (а) и ГЛК (б) (выраженные на 1 г ткани) растворимой фракции ткани печени кроликов при введении ДЭНА.

ГК, ГЛК и ФК в растворимой фракции (рис. 1, 3), хотя в содержании белка существенных сдвигов не наблюдалось (табл. 3). В конце опыта активность ГК была примерно в 1,5—2 раза выше контроля как при выражении на белок, так и на 1 г ткани печени. Значительное повышение отмечалось в активности ГЛК, показатели которой в конце опыта были примерно в 2 раза выше показателей нормальной печени (рис. 3). Следует отметить, что сравнительно высокие показатели активности ГЛК в растворимой фракции ткани печени в предопухоловой стадии канцерогенеза наблюдались нами и у других животных (Жильдема, Терас, 1969). В митохондриальной фракции в последние месяцы введения канцерогена в активности ГК и ГЛК явно выраженных изменений не наблюдалось (табл. 2), причем показатели активности ГЛК были изменчивы.

Явно выраженная тенденция к уменьшению отмечалась как в удельной активности ФК, так и в активности, рассчитанной на 1 г сырого веса ткани печени (табл. 2). Так, в конце десятого месяца удельная актив-

ность ФК в растворимой фракции составляла примерно 44%, а в митохондриальной фракции — 19% от нормальных показателей; при выражении активности фермента на 1 г ткани соответствующие показатели были 42 и 33%.

Сдвиги в активности дегидрогеназ пентозофосфатного пути наблюдались немного позже, чем в активности гексокиназ. Начиная с восьмого (Г-6-ФДГ) и девятого (ФГДГ) месяцев до конца опыта в активности этих ферментов отмечалась явная тенденция к повышению (рис. 2). Особенно заметно наблюдалось это в активности ФГДГ. Так, к концу десятого месяца активность ее была примерно в два раза выше контроля как при расчете на 1 мг белка, так и на 1 г ткани.

Таким образом, данные настоящей работы свидетельствуют о том, что на последних сроках введения ДЭНА в динамике активности изученных ферментов появляются сдвиги, которые, по-видимому, связаны с предопухолевым состоянием ткани печени. Основываясь на данных литературы о развитии опухолей печени у кроликов при введении ДЭНА (Rapp и др., 1965; Thomas, Schmähl, 1965), а также на результатах морфологического исследования, следует допустить возможность дальнейшего развития гепатом. Отмеченная тенденция повышения активности ГК, а также ГЛК указывает на увеличение скорости первичного фосфорилирования гексоз, которое в свою очередь приводит к усилению скорости гликолиза. В то же время значительное понижение активности ФК говорит об уменьшении ее значения в утилизации гексоз уже в предопухоловом периоде. Уменьшение роли ФК при фосфорилировании гексоз в опухолевой ткани описано и в литературе (Sweeney и др., 1963). Пентозофосфатный путь, как известно, в опухолевой ткани имеет важную роль, состоящую в обеспечении интенсивного биосинтеза нуклеиновых кислот, нуклеотидов, НАДФ-Н и других необходимых для развивающейся опухоли соединений. Повышение активности Г-6-ФДГ и ФГДГ уже на ранней стадии канцерогенеза указывает на увеличение роли пентозофосфатного пути в обмене клетки и, по-видимому, свидетельствует о преобразовании обменных процессов в сторону злокачественного типа.

Выводы

1. Время индукции опухолей длительным введением ДЭНА у кроликов значительно длиннее, чем у крыс и мышей.
2. В первые месяцы введения ДЭНА в активности ферментов ткани печени возникают временные обратимые сдвиги, которые указывают на неспецифическое действие ДЭНА на ферментные процессы клетки.
3. При длительном введении ДЭНА в ткани печени кроликов в предопухоловый период канцерогенеза наблюдаются изменения активности ГК, ГЛК и ФК, а также Г-6-ФДГ и ФГДГ, которые можно рассматривать как ранние биохимические признаки малигнизации, предшествующие появлению морфологически регистрируемых опухолей.

ЛИТЕРАТУРА

- Ильин В. С., Кильдема Л. А., Терас Л. Э., 1968. Активность фруктокиназы растворимой фракции и митохондрий печени крыс и мышей. *Биохимия* **33** (1) : 175—177.
- Кильдема Л. А., Терас Л. Э., 1969. Активность гексокиназ на разных этапах малигнизации печени. *Вопр. мед. химии* **15** (5) : 525—532.
- Крицман М. Г., Конилова А. С., 1968. В кн.: *Индукция ферментов в норме и патологии*. М. : 134.

- Рубенчик Б. Л., Плисс М. Б., 1968. Активность ферментов, превращающих глюкозо-6-фосфат в печени крыс при канцерогенезе. *Вопр. мед. химии* **14** (3) : 249—252.
- Фишер А., 1961. В кн.: Физиология и экспериментальная патология печени. Будапешт : 52.
- Швембергер И. Н., 1963. В сб.: Исследование канцерогенного действия М-нитрозодиметиламина и N-нитрозодиэтиламина. В сб.: Цитология злокачественного роста. М.—Л. : 86—91.
- Швембергер И. Н., 1965. Индукция N-нитрозодиэтиламином злокачественных опухолей пищевода и желудка у мышей C₃HA. *Вопр. онкол.* **11** (6) : 74—78.
- Argus M. F., 1961. Carcinogenesis as related to protein denaturation by nitrosamines and other watersoluble agents. *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.* **3** (3) : 206.
- Dontenwill W., Mohr U., 1961. Carcinome des Respirationstractus nach Behandlung von Goldhamstern mit Diäthylnitrosamin. *Ztschr. Krebsforsch.* **64** (4) : 305—312.
- Druckrey H., Schmähel D., 1962. Quantitative Analyse der experimentellen Krebszeugung. *Naturwissenschaften* **49** (10) : 217.
- Druckrey H., Steinhoff D., 1962. Erzeugung von Leberkrebs an Meerschweinchen. *Naturwissenschaften* **49** (21) : 497—498.
- Glock G. E., McLean P., 1953. Further studies on the properties and assay of glucose 6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase of rat liver. *Biochem. J.* **55** : 400—408.
- Hildmann W., 1963. Bemerkungen zur Fruktose-Bestimmung im Blut mittels der Resorzin-Thioharnstoff-Reaktion nach Roe. Über den Einfluss der Glukose auf die bestimmbare Fruktose-Konzentration. *Ztschr. med. Labortechnik* **4** (5) : 245—246.
- Kuypers Ch. M. A., 1959. Untersuchungen über Fruktokinase. 2. In vivo-Veränderungen des Enzymgehaltes der Leber. *Proc. Kon. Med. nederl. Akad. Wetensch.* **62** sect. C : 436—444.
- Lowry O., Rosenbrough N., Farr A., Randall R. J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193** : 265—272.
- McLean P., Brown J., 1966. Activities of some enzymes concerned with citrate and glucose metabolism in transplanted rat hepatomas. *Biochem. J.* **98** : 874—882.
- O'Garra R. W., Kelly M. G., 1965. Induction of hepatomas in monkeys given N-nitrosodiethylamine (DNA). *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.* **6** : 50.
- Rapp H. J., Carleton J. H., Crisler C., Nadel E. M., 1965. Induction of malignant tumors in the rabbit by oral administration of diethylnitrosamine. *J. Nat. Cancer Inst.* **34** (4) : 453—458.
- Salas M., Vinuela E., Sols A., 1963. Insulin-dependent synthesis of liver glucokinase in the rat. *J. Biol. Chem.* **238** (11) : 3535—3538.
- Schmähel D., Thomas C., König K., 1963. Versuche zur Krebszeugung mit Diäthylnitrosamin bei Mäusen. *Naturwissenschaften* **50** (11) : 407.
- Schmähel D., Thomas C., Scheld G., 1964. Cancerogene Wirkung von Diäthylnitrosamin beim Hund. *Naturwissenschaften* **51** (19) : 466—467.
- Sweeney M. J., Ashmore J., Morris H. P., Weber G., 1963. Comparative biochemistry of hepatomas. IV. Isotope studies of glucose and fructose metabolism in liver tumors of different growth rates. *Cancer Res.* **23** (7) : 995—1002.
- Sydow G., 1964. Die Hexokinaseaktivität in Homogenaten normalen, regenerierenden und präcancerösen Rattenleber sowie in primären und transplantierten Hepatomen. *Acta biol. med. Germ.* **12** (4) : 517—518.
- Sydow G., Horn K.-H., 1965. Der Einfluss von Diäthylnitrosamin auf Glukosephosphorylierende Fermente der Mäuseleber. *Acta biol. med. Germ.* **14** : 246—249.
- Sydow G., Sydow H., 1965. Die Wirkung kurzdauernden Verabreichung von cancerogenen Stoffen auf den Glykogengehalt sowie auf die Hexokinase- und Glukokinaseaktivität der Rattenleber. *Acta biol. med. Germ.* **14** (5) : 468—475.
- Thomas C., Schmähel D., 1965. Vergleichende morphologische und toxikologische Untersuchungen an Maus, Ratte, Meerschweinchen, Kaninchen und Hund zur Prüfung der cancerogenen Wirkung und Organotropie des Diäthylnitrosamins. *Virchow's Arch. path. Anat.* **340** (2) : 122—136.

LINDA KILDEMA, LUULE TERAS, REIN BIRK

**HEKSOKINAASIDE JA PENTOOSFOSFAATTSÜKLI DEHÜDROGENAASIDE
AKTIIVSUSE MUUTUSTEST KÜÜLIKUTE MAKSAKOES DIETÜÜLNITROOS-
AMIINI MANUSTAMISEL**

Resümee

Uuriti heksokinaasi, glükokinaasi ja fruktokinaasi ning glükoos-6-fosfaat- ja 6-fosfoglükonaatdehüdrogenaasi aktiivsust küülikute maksakoe rakufraktsioonides (lahustuv ja mitokondrite fraktsioon) dietüülnitroosamiiniga indutseeritud kantserogeneesi puhul. Katse tulemustest selgus, et dietüülnitroosamiini toimel arenevad küülikutel kasvavad tunduvalt aeglasemalt kui rottidel ja hiirtel. Kantserogeeni pikaajalisel manustamisel (8 kuu kestel 2,5 mg kg kehakaalu kohta päevas sondiga vesilahusena söögitorru) tekivad katseloomade maksas fermentide aktiivsuse muutused, mis eelnevad kasvajate morfoloogiliste tunnuste ilmnemisele.

ENSV Tervishoiu Ministeeriumi
Eksperimentaalse ja Kliinilise Meditsiini Instituut

Toimetusse saanud
24. V 1971

LINDA KILDEMA, LUULE TERAS, REIN BIRK

**ACTIVITY OF HEXOKINASES AND DEHYDROGENASES OF PENTOSE
PHOSPHATE PATHWAY IN RABBIT LIVER BY THE ADMINISTRATION
OF DIETHYLNITROSAMINE**

Summary

The activities of hexokinase, glucokinase, fructokinase, glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase were studied in rabbit liver cellular fractions (soluble and mitochondrial fraction) during carcinogenesis induced by diethylnitrosamine. The results give direct evidence that the development of tumorous processes of rabbits is remarkably slower than that of rats and mice. During a long-term administration of cancerogene (during 8 months in doses of 2.5 mg per kg of body weight daily by oesophagus, in water solution) changes appear in the enzyme activities in the cellular fractions of liver, occurring prior to the manifestation of the morphological symptoms of tumors.

Ministry of Health of the Estonian SSR,
Institute of Experimental and
Clinical Medicine

Received
May 24, 1971