ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
АКАДЕМИЯ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР

Հիսպեր. և կլինիկ. բժշկ. հանդես

VIII, № 5, 1968

Журн. экспер. и клинич. медицины

А. А. МНАЦАКАНЯН

К ВОПРОСУ ОБ УСТОЙЧИВОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК К ДЕЙСТВИЮ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ

Для характеристики ткани и отношения между опухолевыми и нормальными клетками большое значение имеют свойства поверхности клеток.

А. Г. Маленков (цит. по Ю. М. Васильеву [1]) считает «существенным для образования сцепления колебательные движения, совершаемые поверхностями соприкасающихся клеток. Ритм и амплитуда колебаний поверхностей гомологичных клеток сходны, поэтому между ними развиваются максимальные силы сцепления».

В вопросе о сущности межклеточного отталкивания, которое приводит к уравновешиванию сил сцепления, нет разногласий, и все авторы согласны с тем, что такое отталкивание обусловлено электрическим зарядом поверхности клеток (дзета-потенциал поверхности).

Известно, что поверхность живых клеток, как правило, имеет отрицательный заряд, который возникает, вероятно, за счет различных анионов, главным образом карбоксильных групп белков, сиаловых кислот, фосфатов и др.

Установлено, что поверхность опухолевых клеток имеет более высокий заряд, чем гомологичные нормальные клетки [4, 5, 7, 10]. Показано, что высокий заряд поверхности опухолевых клеток, возможно, зависит от увеличения числа свободных карбоксильных групп сиаловых кислот. При обработке нейраминидазой, которая отщепляет N-ацитилнейраминовую кислоту из состава гликопротеидов, значительно уменьшается поверхностная подвижность опухолевых клеток [7, 10]. Наличие сиаловых кислот на поверхности опухолевых клеток доказано электрофоретической подвижностью и химическими исследованиями.

Е. Мерсер [9] в опухолевом превращении эпидермальных клеток одним из ранних изменений считает нарушение процессов межклеточного сцепления. Установлено также, что опухолевые фибробласты в отличие от нормальных фибробласт соединительной ткани не прекращают движения при контакте друг с другом или с нормальными фибробластами [4]. Они могут наползать друг на друга и образовывать очажки, состоящие из нескольких слоев клеток. Это свойство является одной из характерных черт в злокачественной трансформации.

Приведенные данные показывают, что при контакте между нормальными клетками возникают достаточные силы сцепления, которые и препятствуют их дальнейшему движению. Сцепление же между опу-

холевыми клетками выражено слабее, поэтому они даже после контакта могут продолжать движение. Из изложенного видно, что опухолевая ткань имеет высокий поверхностный заряд и значительно слабое межклеточное сцепление. Такая особенность опухолевых клеток, видимо, играет важную роль в выделении их из тканевого комплекса и миграции.

Общеизвестно, что инвазивный рост опухоли обычно сопровождается распадом нормальной окружающей ткани. Для объяснения сущ-

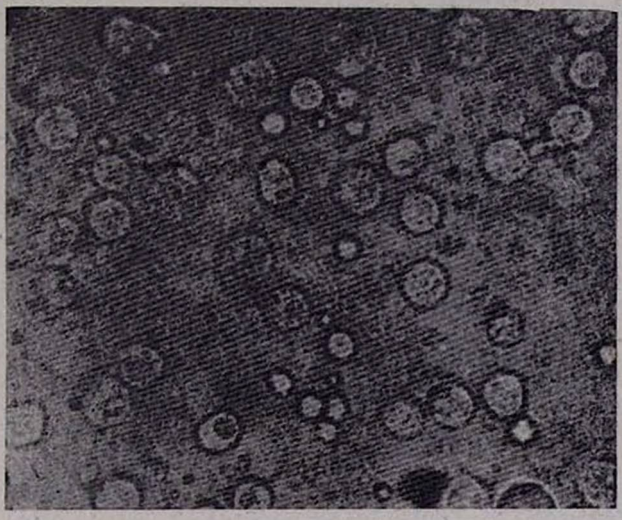

Рис. 1. Опухолевые клетки Эрлиха после 60-минутной экспозиции в разбавленном растворе кристаллического трипсина (1 : 50000).

ности роста опухолей и деструкции нормальных клеток был предложен ряд теорий. Важную роль в этом приписывали молочной кислоте или ферментам типа гиалуронидаз. Однако эти теории экспериментально не подтвердились.

В настоящее время широко обсуждается в этом вопросе роль протеолитических ферментов. Б. Сильвен и сотрудники (цит. по Ю. М. Васильеву [1]) микрохимическим методом установили в опухолевых срезах наличие высокоактивных протеолитических ферментов типа котепсинов (А и В) и дипептидаз. Причем наибольшая активность этих ферментов обнаружена в срезах из участков на границе опухолевой и нормальной ткани. По мнению Б. Сильвена, протеазы, выделяемые опухолевыми клетками, вызывают лизис нормальных клеток. Однако остается неясным, почему протеолитические ферменты, выделяемые опухолью, лизируют лишь нормальные клетки окружающей ткани, но не действуют литически на сами опухолевые клетки или на клетки и межклеточное вещество соединительнотканной стромы опухоли.

Мнение Сильвена подтверждается и другими авторами. В частности, Б. Холмберг [8] обнаружил высоко активные протеолитические

ферменты в интерстициальной жидкости у солидных опухолей и в асцитной жидкости опухоли Эрлиха.

Приведенные литературные данные, а также наши предыдущие исследования [2, 3] послужили основанием для изучения устойчивости опухолевых клеток к действию протеолитических ферментов. В опытах

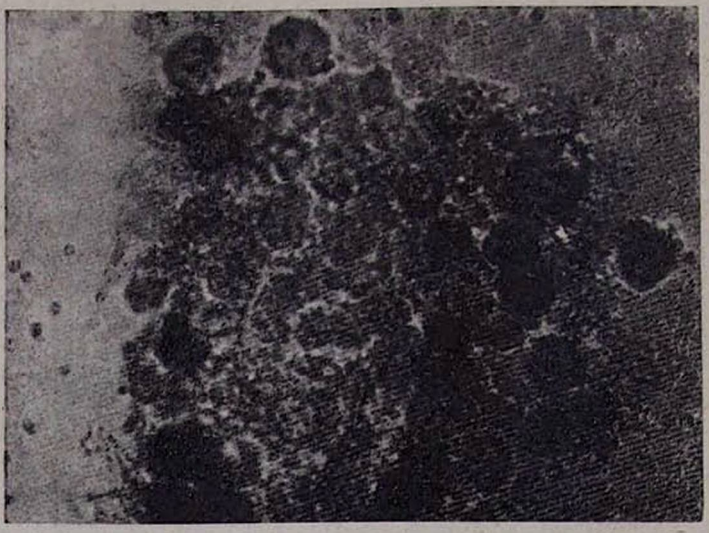

Рис. 2. Опухолевые клетки Эрлиха после 15-минутной экспозиции в разбавленном растворе фермента (1 : 30000) и последующей 15-минутной экспозиции в разбавленном растворе трипсина (1 : 50000).

на белых крысах нами было показано [2, 3], что устойчивость слизистой оболочки пищеварительного тракта к действию высокоактивных протеолитических ферментов обусловливается наличием в их составе большого количества гликопротеидов. Известно, что небелковый компонент последних располагается на поверхности клеток слизистой оболочки, образуя при этом слой, наподобие тонкой пленки, и тем самым обеспечивая невредимость слизистой оболочки от действия протеолитических ферментов. Одновременно нами показано, что количество гликопротеидов в слизистой оболочке изменяется в зависимости от активности выделяемого желудочного сока, причем наибольшее количество гликопротеидов в слизистой обнаружено при даче того раздражителя, который вызывает выделение желудочного сока, обладающего наибольшей переваривающей силой.

Исходя из наших исследований и данных литературы, мы предполагаем, что устойчивость опухолевых клеток к действию протеолитических ферментов, возможно, обусловлена также наличием гликопротеидной оболочки, которая защищает их от воздействия указанных ферментов. На наличие оболочки на поверхности опухолевых клеток указывают Г. Гасич и Т. Гасич [6]. Однако наличие оболочки на поверхности опухолевых клеток авторы связывали со способностью образования

метастазов, а отнюдь не протеолитической устойчивостью опухолевых клеток. Для подкрепления нашего предположения мы исходили из того, что если опухолевые клетки имеют защитные оболочки гликопротеидного происхождения, то при разрушении последних они должны подвергаться лизису под воздействием протеолитических ферментов. Выяснению данного вопроса посвящена настоящая работа.

Опыты были поставлены in vitro с асцитными опухолевыми клетками Эрлиха.

Разрушение защитной оболочки и лизис опухолевых клеток вызывали ферментативно. В качестве разрушающего фермента защитной

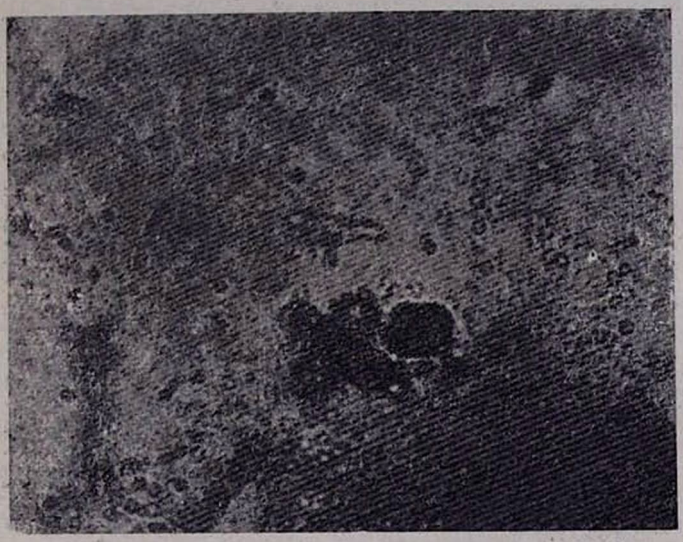

Рис. 3. То же самое, что на рис. 2, в экспозиции по 20 мин.

оболочки использовали кристаллический препарат RDE. В качестве лизирующего фермента употребляли кристаллический трипсин.

Действие ферментов изучалось в физиологическом растворе. Критерием их действия считали окрашивание опухолевых клеток 0,05%-ным водным раствором эозина, а лизис устанавливали микроскопически.

В I серии опытов изучали действие растворов отдельно взятых ферментов на опухолевые клетки Эрлиха в различной концентрации и экспозиции.

Во II серии опытов испытывали совместное действие указанных ферментов. Причем сначала действовали раствором RDE, а затем через разные промежутки времени—раствором трипсина.

Как показали результаты опытов I серии, опухолевые клетки Эрлиха не погибают и не подвергаются лизису от воздействия растворов отдельно взятых ферментов при любой концентрации и экспозиции. Однако необходимо отметить, что под действием RDE опухолевые клетки Эрлиха не погибают, но наблюдается тенденция к их склеива-

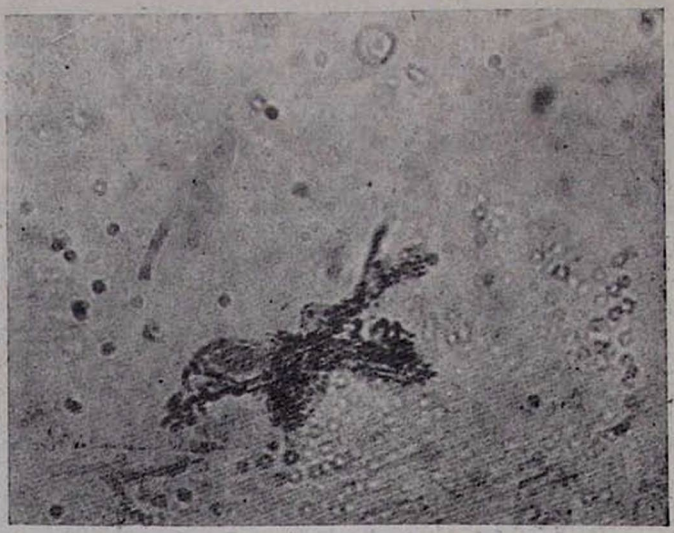

Рис. 4. То же самое, что на рис. 2, в экспозиции по 25 мин.

Рис. 5. То же самое, что на рис. 2, в экспозиции по 30 мин.

нию. Это говорит о том, что опухолевые клетки лишились защитной оболочки, которая обусловливала их поверхностный заряд.

Результаты II серии опытов (рис. 1—5) полностью оправдали наше предположение. Выяснилось, что после действия фермента RDE на опухолевые клетки последующее воздействие трипсина за короткий срок приводит к их гибели, а затем лизису.

Эти опыты убеждают, что опухолевые клетки покрыты защитной оболочкой гликопротеидного происхождения, чем и обусловливается их устойчивость в отношении действия протеолитических ферментов. Разрушение этой оболочки под действием RDE приводит к потере устой-

чивости опухолевых клеток к действию протеолитических ферментов, вследствие чего они подвергаются лизису.

Приведенные нами данные имеют предварительный характер и являются дискутабельными. Несмотря на это, данный вопрос имеет большое теоретическое и практическое значение. При его подтверждении открываются новые аспекты в вопросе поисков средств в борьбе с злокачественными новообразованиями.

Результаты наших исследований позволяют сделать следующие выводы.

1. Устойчивость опухолевых клеток к воздействию протеолитических ферментов обусловлена наличием на их поверхности гликопротеидной оболочки.

2. Под действием RDE разрушается защитная гликопротеидная оболочка опухолевых клеток, вследствие чего они легко подвергаются воздействию трипсина.

3. Последовательное действие указанных двух ферментов RDE и трипсина приводит к гибели, а затем и лизису опухолевых клеток.

Кафедра биохимии Ереванского
зооветеринарного института

Поступило 19/VI 1968 г.

Ա. Ս. ՄՆԱՑԱԿԱՆՅԱՆ

ՊՐՈՏԵՈԼԻՏԻԿ ՖԵՐՄԵՆՏՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՆԿԱՏՄԱՄԲ ՈՒՌՈՒՅՔԱՅԻՆ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ԴԻՄԱՑԿՈՒՆՈՒԹՅԱՆ ՀԱՐՑԻ ՄԱՍԻՆ

Ա մ փ ո փ ո ւ մ

Ուսումնասիրվել է պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների ազդեցության նկատմամբ էռլիխի ասցիտային ուռուցքի բջիջների դիմացկունության հարցը։

Կատարված in vitro փորձերի արդյունքներից պարզվում է, որ, իրոք, ուռուցքային բջիջները շրջապատված են գլիկոպրոտեիդային ծագում ունեցող պաշտպանիչ թաղանթով, որի շնորհիվ նրանք ձեռք են բերում դիմացկունություն պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների ազդեցության նկատմամբ։ Երբ հատուկ ֆերմենտի ազդեցության ներքո (որի ակտիվությունը ուռուցքային բջիջներում շատ ցածր է) քայքայվում է հիշյալ պաշտպանիչ թաղանթը, կարճ ժամանակամիջոցում պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների ազդեցությունից առաջ է գալիս ուռուցքային բջիջների մահացում, ապա՝ լիզիս։

Հիշյալ փաստի հայտնագործումն ունի կարևոր տեսական և գործնական նշանակություն։ Մեր ստացած արդյունքները առայժմ հանդիսանում են որպես նախնական տվյալներ և ենթակա են դիսկուսիայի։ Եթե ապացուցվի մեր կողմից առաջ քաշված տեսակետը, ուռուցքների դեմ պայքարի գործում կստեղծվեն նոր հնարավորություններ։

ЛИТЕРАТУРА

1. *Васильев Ю. М.* В кн.: Биология элокачественного роста. М., 1965.
2. *Мнацаканян А. А.* Биологический журнал Армении АН Арм. ССР, 1966, т. 19, 6, стр. 47.

3. *Мнацаканян А. А.* Журнал клинической и экспериментальной медицины АН Арм. ССР, 1947, т. 7, 1, стр. 25.
4. *Abercrombia M., Ambrose E. Y.* Cancer Res., 22, 525, 1962.
5. *Ambrose E. Y.* Biological interactions in normal and neoplastic growth. Hery Ford Hospital internat. Sympos., Boston, 1962, 149.
6. *Gasic G., Gasic T.* Proc. Nat. Acad. Sci., 1962, 48, 1172.
7. *Forster Y. A., Ambrose E. Y., Macpherson Y. A.* Nature, 1962, 196, 1068.
8. *Holmberg B.* Nature, 1962, 195, 45.
9. *Meercer E.* Brit. Med. Bull., 1962, 18, 187.
10. *Rohestroh-Bauer G. W., Fuhrman G. P., Grancer T., Kubler W.* and *Rueff F.* Nature, 1962, 49, 363.