

УДК 616—006.6:615.32

С. А. ГОНЯН, Э. А. КАРАГУЛЯН, Г. А. ПАНОСЯН

ВЛИЯНИЕ ГИСТОНА И ЗЕЛЕННОГО ПРОЧНОГО НА РАЗВИТИЕ АСЦИТНОЙ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА

Исследовано влияние гистона и зеленого прочного на развитие асцитной карциномы Эрлиха с использованием разработанного нами метода ранней диагностики развития опухолевого процесса определением изменения окислительно-восстановительного потенциала крови.

Обработка клеток карциномы Эрлиха *in vitro* гистонам эритроцитов кур приводит к замедлению развития опухоли.

При обработке опухолевых клеток красителем зеленым прочным получен двоякий эффект. Препараты зеленого прочного, которые образуют *in vitro* комплексы с гистонами, ускоряют развитие опухоли. Те же препараты, которые этим свойством не обладают, вызывают замедленное развитие опухоли.

Угнетающее действие гистона на развитие опухоли известно давно [1, 2, 4, 9, 10, 12], однако механизм этого действия не ясен. Ранее нами было найдено, что гистон тимуса телят и эритроцитов кур тормозит развитие саркомы Рауса у кур, действует токсически на саркомные клетки и вызывает рассасывание опухолей у кур, которым вводятся обработанные гистонами клетки, т. е. приводит к иммунологической перестройке в организме-носителе [5—7]. С другой стороны, нами было обнаружено, что зеленый прочный, взаимодействующий *in vivo* и *in vitro* с гистонами, обладает биологической активностью, выражающейся в стимуляции роста и развития и в морфологических изменениях растительного организма [8].

В настоящем сообщении приводятся результаты экспериментов по влиянию гистона и зеленого прочного на развитие асцитной карциномы Эрлиха с использованием разработанного нами метода ранней диагностики развития опухолевого процесса определением изменения окислительно-восстановительного потенциала крови [3].

Материалы и методика

Нефракционированный гистон эритроцитов кур выделяется методом, описанным Филлипсом и Джонсом [11]. Использовался зеленый прочный двух фирм—английской «Михром» и немецкой «Мюнхен».

Прививку асцитной карциномы проводили путем внутрибрюшинного введения 0,1 мл свежесобранной асцитной жидкости. О скорости развития опухоли судили по увеличению веса мышей, по срокам их гибели и динамике изменения окислительно-восстановительного потен-

пиала (ОВП) крови. Окислительно-восстановительный потенциал определялся по описанной ранее методике [3].

Опухолевые клетки выдерживали в течение 30 мин при 37°C с растворами гистона эритроцитов кур или зеленого прочного, а затем вводили внутрибрюшинно подопытным мышам. Контрольной группе мышей вводили опухолевые клетки, выдержанные в тех же условиях в физиологическом растворе.

Результаты и обсуждение

Результаты экспериментов по влиянию предварительной инкубации *in vitro* опухолевых клеток с гистонам эритроцитов кур в концентрации 2 мг/мл в физиологическом растворе приведены на рис. 1. Как видно из рисунка, 30-минутная обработка опухолевых клеток гистонам при 37°C приводит к такому изменению клеток, что развитие опухоли задержи-

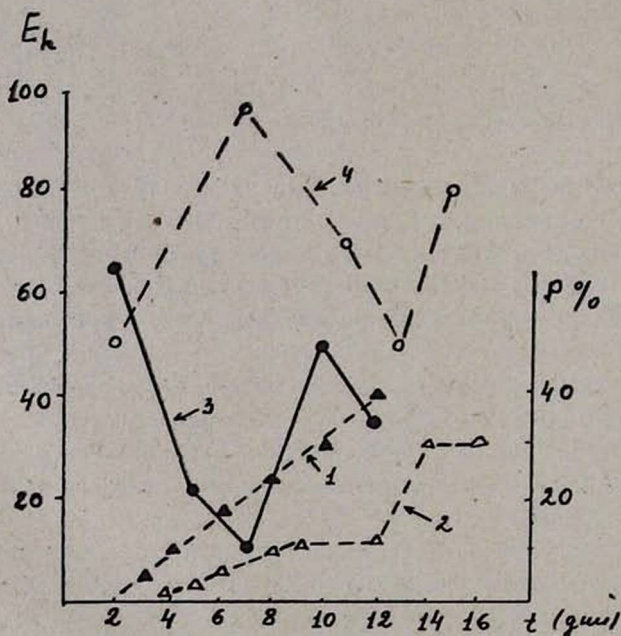


Рис. 1. Влияние предварительной инкубации клеток асцитной карциномы с гистонам (2 мг/мл) *in vitro* на развитие опухоли и ОВП крови мышей. По оси ординат — ОВП в мВ и прирост веса Р в %, по оси абсцисс — дни после инъекции опухолевых клеток. 1 — вес мышей контрольной группы; 2 — вес мышей опытной группы; 3, 4 — ОВП этих групп соответственно.

вается. Это отражается как на скорости увеличения веса мышей, так и на характере изменения кривой ОВП. Если в контрольной группе все мыши погибают на 12-й день, то в опытной группе мыши живы еще на 15—16-й день.

Подобное замедленное развитие опухоли нельзя объяснить только токсическим эффектом гистона, который вызывает гибель части клеток,

в результате чего имеет место лишь эффект замедленного развития опухоли при введении уменьшенного количества опухолевых клеток. В наших условиях опыта этот эффект не может проявляться уже потому, что число введенных клеток заведомо превышает во много раз то количество, изменение которого в ту или иную сторону может привести к изменению скорости развития опухоли, поскольку проведенная нами обработка опухолевых клеток гистонами приводила к гибели лишь не-

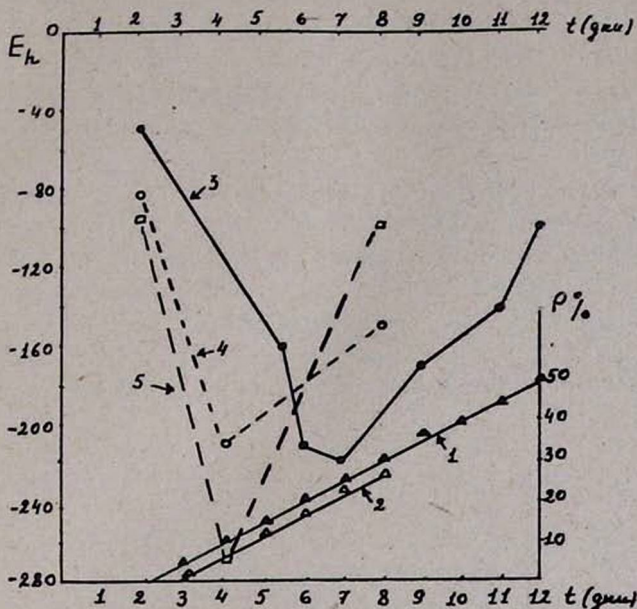


Рис. 2. Влияние предварительной инкубации клеток карциномы Эрлиха с зеленым прочным на развитие опухоли и ОВП крови мышей. Обозначения те же, что и на рис. 1. 1—вес мышей контрольной группы; 2—вес мышей опытной группы (0,1 М раствор зеленого прочного); 3—ОВП мышей контрольной группы; 4, 5—ОВП мышей опытной группы (при обработке соответственно 0,1 и 0,01 М растворов зеленого прочного).

большой части имеющихся клеток. Следовательно, замедленное развитие опухоли в наших экспериментах необходимо объяснить не гибелью клеток, а их изменением (заторможенностью биохимических процессов, репрессией процессов синтеза, возможно, осуществляемого на геномном уровне).

Серия экспериментов с обработкой клеток зеленым прочным (красителем, связывающим эндогенный гистон) была проведена для проверки предположения о том, что обработка клеток асцитной карциномы Эрлиха экзогенным гистонами затрачивает и генетический аппарат опухолевых клеток. Эксперименты с зеленым прочным проводились с использованием двух концентраций красителя 0,01 и 0,1 М раствора. Результаты этих экспериментов приведены на рис. 2. Как видно из этого рисунка, предварительная инкубация опухолевых клеток в течение 30 мин при 37°C с зеленым прочным в обеих концентрациях приводит к

сильному ускорению процесса опухолеобразования, что видно по сдвигу кривой изменения ОВП крови влево (максимальное падение E_h в опытной группе животных наблюдается на 4-й день против 7-го в контрольной) и по срокам выживания (в контрольной группе все животные погибли на 12-й день, тогда как в опытной—на 8-й).

Нами было показано также, что биологическая активность зеленого прочного зависит от препаратов, которые использовались в опыте. Те из них, которые *in vitro* взаимодействуют с гистонами, проявляют также выраженную биологическую активность. А препараты, которые либо не образуют комплекса с гистонами, либо комплексируются с ними слабо, не оказывают также стимулирующего эффекта или, наоборот, часто задерживают прорастание семян и рост корешков и стебельков [8].

Было интересно испытать эти препараты зеленого прочного также на опухолевых клетках. Приведенные на рис. 2 результаты получены при использовании зеленого прочного, оказывающего на растения стимулирующее воздействие, а также образующего с гистонами комплекс *in vitro*. Пример результата инкубации опухолевых клеток с препаратами зеленого прочного, не комплексирующегося с гистонами и оказывающего на растения угнетающее действие, приведен на рис. 3.

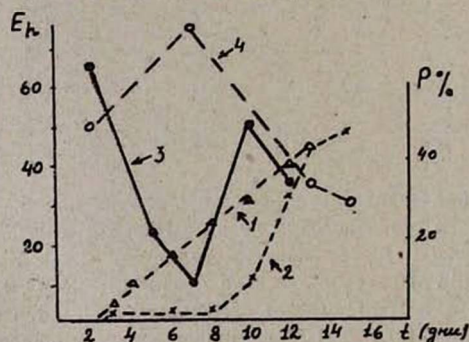


Рис. 3. Влияние инкубации *in vitro* опухолевых клеток с препаратами зеленого прочного, не комплексирующегося с гистонами. Обозначения те же, что и на рис. 1. 1 и 3—вес и ОВП крови мышей контрольной группы; 2 и 4—вес и ОВП крови мышей опытной группы.

Как видно из рис. 3, данный препарат зеленого прочного не только не усиливает процесс опухолеобразования, но даже угнетает его, что выражается в задержке увеличения веса мышей в первые дни после инъекции опухолевых клеток, в увеличении продолжительности жизни животных на 3 дня и в значительной задержке негативирования ОВП крови с предварительным сильным позитивированием, как в случае обработки клеток гистонами (рис. 1).

Аналогичный эффект угнетения роста опухоли наблюдается и в варианте опыта, когда данный препарат зеленого прочного применялся

не *in vitro*, а вводился ежедневно внутривбрюшинно в количестве 1 мг/мл на мышшь (рис. 4).

Таким образом, опыты, проведенные с зеленым прочным, указывают на то, что эффект гистона на карциному Эрлиха, очевидно, зависит, с одной стороны, от угнетающего токсического действия гистона, с другой стороны, от действия его на генетический аппарат опухолевой клетки, так как препарат зеленого прочного, образующий *in vitro* нерастворимые комплексы с гистонами, вызывает ускорение процесса опухоле-

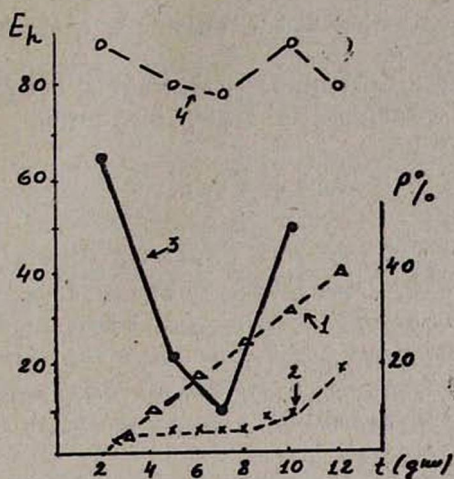


Рис. 4. Влияние ежедневного внутривбрюшинного введения 1 мг зеленого прочного (не комплексирующегося с гистонами) на развитие аспитной карциномы Эрлиха. Обозначения те же, что и на рис. 3.

образования. Очевидно, зеленый прочный, проникая в клетку, взаимодействует с гистонами, что вызывает дополнительную дерепрессию генетического материала, приводящую к ускорению процессов подготовки к митозу и делению клетки.

ВЫВОДЫ

1. Обработка клетки карциномы Эрлиха *in vitro* гистонами эритроцитов кур в концентрации 2 мг/мл в течение 30 мин при 37° приводит к более замедленному развитию опухоли, что выражается в замедленном увеличении веса мышей, увеличении продолжительности жизни и сдвиге кривой изменения окислительно-восстановительного потенциала вправо.

2. Обработка опухолевых клеток красителем зеленым прочным приводит к двойному эффекту. Те препараты зеленого прочного, которые образуют *in vitro* комплексы с гистонами и обладают биологической активностью на растениях, ускоряют и развитие опухоли. Те же препараты, которые этим свойством не обладают, вызывают замедленное развитие опухоли.

3. Эффект гистона на карциному Эрлиха, по-видимому, зависит как от угнетающего токсического действия гистонов, так и от действия их на генетический аппарат опухолевой клетки.

Кафедра биофизики
биологического факультета
Ереванского государственного
университета

Поступила 3/VII 1974 г.

Ս. Ա. ՂՈՆՅԱՆ, Է. Ա. ԿԱՐԱԳՈՒԼՅԱՆ, Գ. Հ. ՓԱՆՈՍՅԱՆ

ՀԻՍՏՈՆԻ ԵՎ ԿԱՆԱԶ ԱՄՈՒՐԻ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԷՐԼԻԽԻ ԱՍՑԻՏԱՅԻՆ ԿԱՐՑԻՆՈՄԱՅԻ ԶԱՐԳԱՑՄԱՆ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Անշատաանքում ուսումնասիրվում է հիստոնի և կանաչ ամուրի ազդեցությունը էրլիխի ասցիտային կարցինոմայի զարգացման վրա, հեղինակների կողմից մշակված ուռուցքային պրոցեսի վաղ փառորոշման արյան օքսիդավերականգնման պոտենցիալի որոշման մեթոդի օգտագործմամբ:

Փորձերը ցույց են տվել, որ էրլիխի կարցինոմայի բջիջները *in vitro* պայմաններում հալերի էրիթրոցիտների հիստոնով մշակելիս տեղի է ունենում ուռուցքի զարգացման դանդաղում:

Ուռուցքային բջիջները կանաչ ամուրի ներկով մշակելիս ստացվել է երկակի էֆֆեկտ. կանաչ ամուրի այն պրեպարատները, որոնք *in vitro* պայմաններում առաջացնում են հիստոնների հետ կոմպլեքս, արագացնում են ուռուցքի զարգացումը, իսկ այն պրեպարատները, որոնք այդ հատկությամբ օժտված չեն, առաջացնում են ուռուցքի զարգացման դանդաղում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бреслер В. М., Воробьев В. И. Цитология, 1963, 5, стр. 69.
2. Бреслер В. М., Воробьев В. И. В кн.: Электронная и флюоресцентная микроскопия клетки. М., 1964, стр. 124.
3. Гонян С. А., Карагулян Э. А., Паносян Г. А. Ученые записки ЕГУ. Естественные науки, 1968, 2(108), стр. 154.
4. Збарский И. Б., Перевощикова К. А. Бюллетень эксперимент. биологии и медицины, 1954, 38, 10, стр. 61.
5. Мартиросян Д. М., Паносян Г. А. Вопросы онкологии, 1969, 15, 10, стр. 103.
6. Мартиросян Д. М., Паносян Г. А. Симпозиум по лейкозам кур. София, 1970, стр. 83.
7. Паносян Г. А., Мартиросян Д. М., Наджарян Н. У. Журнал эксперимент. и клин. медицины АН Арм. ССР, 1969, 11, 5, стр. 18.
8. Паносян Г. А., Тамразян Е. Е. Биологический журнал Армении, 1973, 26, 2, стр. 51.
9. Becker F. F., Green H. Exp. Cell Res., 1960, 19, 361.
10. Illiaca L. S., Holoubek V. Nature, 1961, 191, 922.
11. Phillips D. M. P., Johns E. W. Biochem. J., 1965, 94, 127.
12. Stedman E., Stedman E. Phil. Trans. Roy. Soc., 1957, B 235, 565.