

АНТИМИТОТИЧЕСКАЯ И ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ ПОДЖЕЛУДОЧНОГО КЕЙЛОНА

К.А.Алексян

*/Онкологический научный центр МЗ РА/
375052 Ереван, ул. Фанарджяна, 76*

Ключевые слова: кейлон, β -адренорецепторы, перекисное окисление липидов, злокачественные новообразования

Рак поджелудочной железы является одним из достаточно редких, труднодиагностируемых и в то же время быстро прогрессирующих злокачественных новообразований, составляющих около 3% всех опухолей человека. Лечение его основано на радикальном удалении опухоли, а также радио- и химиотерапии. Однако лечение в поздних стадиях заболевания (а именно в этих стадиях чаще всего диагностируется эта патология) оказывается малоэффективным. Поэтому особенно важен поиск новых, патогенетически целесообразных средств терапии, одним из которых может явиться поджелудочный кейлон — естественный тканеспецифический ингибитор митотического деления клеток панкреаса.

Материал и методы

Исследования проводились на белых беспородных крысах и кроликах, подвергшихся частичной (2/3) панкреатэктомии, на клеточной линии эмбриональных клеток и культуре клеток рака поджелудочной железы СаРа. Определение включения меченого ^3H - тимидина в ДНК осуществлялось согласно методике Ж. Симоне [5]. Об активности свободнорадикальных процессов судили по содержанию малонового диальдегида (МДА) в ферментативной и неферментативной системах перекисного окисления липидов (ПОЛ) [6]. Кейлон выделялся согласно методике Verly [11] в модификации Л.Н.Мкртчяна [3].

Результаты и обсуждение

На панкреатэктомизированных крысах была изучена антимитотическая активность поджелудочного кейлона, выделенного из поджелудочной железы крупного рогатого скота. В опыте были использованы 50 белых беспородных крыс-самцов средней массой 130–140 мг. В результате внутрибрюшинного введения панкреатического кейлона (100 мг/кг

массы) была выявлена его способность тормозить митотическое деление клеток поджелудочной железы, выражающееся не только в существенном снижении митотического индекса (МИ), но и в снижении коэффициента фаз из-за значительно большего угнетения ранних фаз по сравнению с поздними (табл. 1).

Таблица 1

Антимитотическая активность поджелудочного кейлона в панкреасе крыс при частичной панкреатэктомии

Показатель	Опыт, n=25	Торможение (%)	Контроль, n=23
МИ (%)	4.97±0.39 p<0.001	48.9	9.72±0.82
Ранние фазы	4.55±0.32 p<0.001	48.6	8.85±0.77
Поздние фазы	0.48±0.96 p<0.001	46.06	0.89±0.22
Козфф. фаз	9.48		9.94

Радиоизотопное исследование, проведенное на 14 панкреатэктомированных кроликах, установило значительное угнетение синтеза ДНК после внутримышечного введения поджелудочного кейлона в дозе 100 мг/кг (табл. 2).

Таблица 2

Угнетение синтеза ДНК в клетках панкреаса кроликов под влиянием кейлона

Группа	Специф. радиоакт. (имп/мин/мг ткани)	Торможение (%)
Контроль, n=8	5487316.5 ± 151131.2	—
Опыт, n=6	145242.2 ± 11264.5 p<0.001	72.2

Проведение этого исследования на панкреатэктомированных крысах подтвердило наличие этого эффекта поджелудочного кейлона (% торможения — 73.5, p<0.001), а также его невидоспецифичность.

Активность поджелудочного кейлона была исследована также в опытах *in vitro* на культивируемых клетках нормальной поджелудочной железы. Уже с первых часов после введения поджелудочного кейлона происходило подавление способности клеток к делению. Через 24 часа число делящихся клеток составляло 30–40% от контрольного уровня. Антимитотическая активность поджелудочного кейлона в культурах нормальных и опухолевых клеток поджелудочной железы отражена в табл. 3.

Митотическая активность клеток поджелудочной железы при введении кейлона

Клеточная линия	МИ (%)		Торможение (%)
	до введения кейлона	после введения кейлона	
Нормальные клетки в первичной культуре	9.6±0.7	5.4±0.2 p<0.001	43.75
Клеточная линия рака человека СаРа	24.2±0.5	12.3±0.3 p<0.001	49.2

Как видно из таблицы, поджелудочный кейлон обладает достаточно высокой антимиотической и противоопухолевой активностью. Резко менялась и форма клеток. Наблюдалось расслоение монослоя, имели место кариопикноз и кариорексис.

На культивируемых клетках нормальной поджелудочной железы, клетках рака поджелудочной железы, первичных культурах печени и лимфатических узлов эмбрионов крыс была установлена также и тканеспецифичность кейлонного препарата. Введение в культуральную среду панкреатического кейлона оказалось эффективным фактором, ингибирующим деление клеток лишь в поджелудочной железе и СаРа, и не отразилось на росте печеночной и лимфатической клеточных культур. При изучении включения ³H-тимидина в ДНК ряда тканей кроликов, перенесших панкреатэктомию, также установлено, что снижение радиоактивности при введении панкреатического кейлона имело место лишь в поджелудочной железе, не затрагивая другие органы и системы (табл.4).

Таблица 4

Включение ³H-тимидина в ДНК органов кроликов при введении поджелудочного кейлона

Вид ткани	³ H-тимидин (имп/мин)		Торможение (%)
	контроль, n=8	опыт, n=6	
Печень	5741160.8 ± 250060.1	5502455.0 ± 346548.65	
Панкреас	5487316.5 ± 151131.23	1456242.2 ± 11264.5 p<0.001	79.5
Почки	32883177 ± 346104.55	3132980.5 ± 299482.8	
Мышцы	2903.3 ± 513.7	2602.25 ± 257.9	

Результаты изучения механизмов тормозящего влияния кейлонов на деление клеток довольно противоречивы. Однако большинство исследователей придерживается рецепторного механизма действия кейлонов [7,10]. Нами была показана связь доза-эффект в процессе воздействия поджелудочного кейлона [1]. Последнее свидетельствует о наличии на по-

верхности клеток специфических рецепторов. Представлялось важным выявить конкретные рецепторы, через которые осуществляется кейлонная регуляция клеточного деления и дифференцировки. То обстоятельство, что цАМФ значительно потенцирует действие кейлонов [8,9], свидетельствует о непосредственном участии последнего в реализации кейлонной активности и в определенной степени обозначает β -адренорецепторы в качестве возможных мишеней кейлонов. Поэтому возникла необходимость изучения действия кейлонов в условиях модулирования состояния β -адренорецепторов посредством введения β -адренергических средств. В качестве β -адреномиметика был использован изадрин (Sigma, USA), а в качестве β -адреноблокатора — пропранолол (Sigma, USA). Полученные данные свидетельствуют о потенцировании эффекта кейлона изадрином (табл.5).

Таблица 5

Влияние изадрина, пропранолола, поджелудочного кейлона и их сочетаний на митотическую активность и ферментативное ПОЛ в культуре CaPa

Группа (n=5)	МИ (%)	МДА ($\mu\text{M}/\text{mg}$)
Контроль	25.4 \pm 0.8	1.7 \pm 0.17
Кейлон	14.3 \pm 0.4 p<0.001	2.05 \pm 0.15
Изадрин	16.2 \pm 0.4 p<0.001	2.5 \pm 0.35
Кейлон и изадрин	11.2 \pm 0.8 p<0.001	2.7 \pm 0.26
Пропранолол	25.2 \pm 0.4 p<0.05	1.32 \pm 0.025
Пропранолол и кейлон	14.2 \pm 0.6 p<0.001	1.42 \pm 0.256

Проведенные нами ранее исследования [4] механизмов запуска ПОЛ в гепатоцитах *in vitro* показали, что повышенные концентрации свободных катехоламинов, ведущие к β -адренергической индукции цАМФ-зависимого фосфорилирования различных печеночных белков (в том числе и цитохрома P-450), приводят также к усилению липидной пероксидации. Эта связь процессов ПОЛ с уровнем цАМФ, показанная нами введением дибутирил цАМФ, наводит на мысль о важности изучения этих процессов и в условиях воздействия кейлона. Как видно из данных табл. 5, существует определенная взаимосвязь процессов ферментативного липопереокисления и уровня митотической активности. Изолированное действие поджелудочного кейлона повысило содержание конечного продукта ПОЛ — МДА в культуре CaPa, а в сочетании с изадрином активация ПОЛ была выражена сильнее. Последнее обстоятельство косвенно указывает на участие β -адренорецепторов в реализации активности поджелудочного кейлона.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о β -адрено-миметическом характере кейлонной активности. Избирательно действуя на ткани-мишени, кейлон влияет на регуляцию продукции цАМФ, а через него и на белки хроматина и процессы ПОЛ. Можно полагать, что оба эти фактора участвуют в реализации противоопухолевой активности.

Поступила 02.11.99

**ԵՆՔԱՍՏԱՍՈՔՍԱՅԻՆ ԳԵՂՉԻ ՔԵՏԼՈՆԻ ՀԱԿԱՍԻՏՈՏԻԿ ԵՎ
ՀԱԿԱՌՌՈՒՑՔԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ**

Զ.Ա.Ալեքսանյան

Ենթաստամոքսային գեղձի քեյլոնի հակառուռոցային և հակամիտոտիկ ակտիվությունը ուսումնասիրվել է պանկրեատեկտոմիայի ենթարկված առնետների, ճագարների, ինչպես նաև այդ օրգանի նորմալ և քաղցկեղային բջիջների վրա: Գրանցվել է 73-74% միտոզների բլի նվազում կենդանիների մոտ և 46-48% քաղցկեղային բջիջներում: Հյուսվածքաբանորեն հայտնաբերված են կարիոպիկնոզ և կարիորեկսիս: Հետազոտությունները ապացուցել են, որ ենթաստամոքսային քեյլոնի ազդեցությունը իրագործվում է β -ադրենալինեպատրոնների միջոցով: Ցույց է տրված քեյլոնի հյուսվածքային սպեցիֆիկությունը:

ANTIMITOTIC AND ANTICANCER ACTIVITY OF PANCREATIC CHALONE

K.A.Alexanian

Anticancer and antimetabolic activity of pancreatic chalone was studied in experiments carried out on pancreatectomized rats, rabbits, cancerous and normal pancreatic cell cultures. About 73-74% inhibition of cell division in pancreas of partially pancreatectomized animals and 46-48% inhibition with karyopyknosis and karyorhexis in cell cultures were registered. It was shown that pancreatic chalone activity is due to its action as β -adrenomimetic agent. Tissue specificity, absence of species specificity were demonstrated during the investigation of mitotic activity and DNA synthesis as incorporation of [3 H] thimidine.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Александрян К.А.* Вопр. теор. и клин. мед., 1999, 2, 4(11), с. 14.
2. *Гембитский Д.С., Антохин А.И., Романов Ю.А.* Бюлл.эксп.биол. и мед., 1992,114,12, с. 651.
3. *Мкртчян Л.Н., Шукурян С.Г.* Патогенетические подходы к профилактике и терапии опухолей. Ереван, 1988.
4. *Мкртчян С.Л., Александрян К.А., Араратян Э.А., Мхитарян В.Г. Ж.* эксп. и клин. мед. АН АрмССР, 1987, 27, 5, с. 425.
5. *Симоне Ж., Пелерена Б.* Сцинтилляционный метод определения радиоактивности в биологических образцах. Франция, 1976.
6. *Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г.* В кн.: Современные методы в биохимии. М., 1977, с.66.
7. *Attallah A.M., Houck J.C.* Brit. J. Cancer, 1975, 32, p. 693.
8. *Elgio K., Clausen O.P.* Virchows Arch.Abt.A., 1983, 42, 2, p. 143.
9. *Nakatsuma T., Yoshimoto K., Nakayama Y. et al.* Proc.Natl.Acad. Sci. USA, 1983, 80, p.7229.
10. *Rytkmaa T.* Boll.Ist.Steroter., 1975, 54, p. 195.
11. *Verly W.G.* In: The control of liver growth. New York, 1976, p. 401.