

ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ПО МОДАЛЬНОМУ КЛАССУ КЛЕТОК ПРИ ДЕЙСТВИИ НА ОРГАНИЗМ ПЕРЕВИВАЕМОГО ЛИМФОЦИТАРНОГО ЛЕЙКОЗА P – 388

**И.Г. БОГУШ¹, П.И. ШАБАЛКИН¹
А.С. ЯГУБОВ¹, Т.В. ПАВЛОВА²**

¹⁾ Российский онкологический научный центр имени Н.Н. Блохина РАМН, г. Москва

²⁾ Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail: doc.bogush@mail.ru

Исследование было проведено на модели перевиваемого лимфоцитарного лейкоза р – 388. Объектом исследования стали мыши линии DBA₂. Показано, что нарушение гомеостаза, ведущее к развитию опухолевого роста, является результатом изменения механизмов регуляции между органами.

Ключевые слова: опухолевые клетки, лимфоцитарный лейкоз.

Положительный эффект лечения, в частности, при радио- и химиотерапии, во многом зависит от модального класса клеток, то есть доминирующей в популяции группы функционально активных патологических клеток, чувствительных в данный момент к терапевтическому агенту. Вместе с тем, присутствие в организме клеток с измененной функцией служит лишь предпосылкой для возникновения неопластического процесса. Условием же необходимым для его развития, является накопление в органе или ткани определенного их количества. В системе опухоль – организм должно присутствовать не менее одной трети таких клеток [3, 5]. При этом в эту субпопуляцию входят, как правило, клетки преобразованные в процессе как генетической, так и эпигеномной изменчивости. Первые соответствуют аберрантным клеткам. Вторые – преобразованным клеткам, адекватным нормальным, но с функциональной характеристикой, соответствующей не тому органу, в котором они возникли. Если при онкогенезе имеет место существование двух типов субпопуляций патологических клеток то это – дизрегуляторная патология [1]. В ее основе лежат два механизма функциональных расстройств: нарушение и выпадение функций вследствие морфологических дефектов и патологии вследствие дизрегуляции [1]. Известно, что если более трети опухолевых клеток, идентичных по своему функциональному состоянию клеткам нормального органа или ткани, располагаются слева от модального класса нормальных клеток, то опухоль повышает степень функциональной активности генома клеток, на которое направлено действие опухоли, если справа – оказывает противоположное действие [6]. Вследствие того, что не только разные типы опухолевых популяций имеют разную характеристику модального класса, но и популяции клеток нормальных органов, изменяющихся под прямым или опосредованным влиянием опухолевых клеток, сравнительный анализ сдвига модального класса популяции клеток, может ответить на вопрос о характере функциональных событий, происходящих при этом в организме-опухоленосителе [4].

В связи с этим, целью нашего исследования явилось изучение роли модальных классов клеток в межорганных связях в системе опухоль-организм.

Материал и методы исследования. Исследование было проведено на модели перевиваемого лимфоцитарного лейкоза р – 388. Объектом исследования стали 14 мышей линии DBA₂. 7 животным внутрибрюшинно перевивали по 0,3 мл/мышь асцита клеток р – 388, разведенного средой 199 из расчета 1 : 10. 7 животных составили контрольную группу. Материалом для анализа служили мазки или отпечатки органов (печень, почка, легкое, костный мозг) животных без перевиваемых опухолей (контроль) и животных-опухоленосителей и опухолей. Так как все процессы в организме осуществляются при участии популяций клеток, то характер действия опухоли на организм можно оценить через количество клеток, у которых изменилась функциональная активность генома, определяемая с помощью метода количественной оценки



уровня функциональной активности генома клетки [2]. Метод основан на цитофотометрическом анализе популяции клеток при окраске ядер по Фельгену (окраска на ДНК) и нафтоловым желтым S (окраска на гистоны). В качестве критерия функционального состояния клетки предложен показатель $K_{\text{фаген}}$ – коэффициент функциональной активности генома клетки, – который выведен из отношения величины гистон/ДНК после определения оптической плотности окрашенного ядра. Для статистического анализа материала использовали критерий Стьюдента ($p \leq 0,05$). Наряду с оценкой функционального состояния популяции по величине $K_{\text{фаген}}$ большинство исследуемых популяций анализировали по сдвигу модального класса клеток.

Для выделения модального класса клеток были найдены минимальное и максимальное значения $K_{\text{фаген}}$ гистограмм клеток опыта и контроля. После выбора из них самую малую и самую большую величины $K_{\text{фаген}}$, определили пределы для построения общей гистограммы клеток опыта и стандарта. Затем общую гистограмму разделили на 3 разряда. Было выделено процентное число клеток опыта и стандарта, соответствующих каждому разряду.

Таблица 1

Определение характера взаимосвязи между органами по уровню функциональной активности генома клеток до момента перевивки животным лейкоцитарного лейкоза р – 388

№ п/п	Группа сравнения	Средняя величина $K_{\text{фаген}}$	Процентное число клеток опыта, превышающее процентное число клеток стандарта в пределах его гистограммы и расположенных от модального класса клеток стандарта	
			слева	справа
1	Почка* - костный мозг	1,63(1,56 – 1,70) 1,38(1,30 – 1,46)	34	-
2	Легкое* - костный мозг	1,65(1,57 – 1,73) 1,38(1,30 – 1,46)	34	-
3	Печень* - костный мозг	1,73(1,65 – 1,81) 1,38(1,30 – 1,46)	22	-
4	Костный мозг* - почка	1,38(1,30 – 1,46) 1,63(1,56 – 1,70)	-	33
5	Легкое* - почка	1,65(1,57 – 1,73) 1,63(1,56 – 1,70)	-	-
6	Печень* - почка	1,73(1,65 – 1,81) 1,63(1,56 – 1,70)	9	-
7	Костный мозг* - легкое	1,38(1,30 – 1,46) 1,65(1,57 – 1,73)	-	34
8	Почка* - легкое	1,63(1,56 – 1,70) 1,65(1,57 – 1,73)	-	1
9	Печень* - легкое	1,73(1,65 – 1,81) 1,65(1,57 – 1,73)	4	-
10	Костный мозг* - печень	1,38(1,30 – 1,46) 1,73(1,65 – 1,81)	-	27
11	Почки* - печень	1,63(1,56 – 1,70) 1,73(1,65 – 1,81)	-	8
12	Легкое* - печень	1,65(1,57 – 1,73) 1,73(1,65 – 1,81)	-	7

Примечание. * – Объект, служащий стандартом в группе сравнения.

Результаты исследования и их обсуждение. Было проведено изучение характера взаимоотношений между органами в условиях нормы. В 4 и 7 группах сравнения, в пределах гистограммы клеток костного мозга (популяция клеток костного мозга принята за стандарт по отношению к популяциям клеток почки и легкого) справа от модального класса его клеток доля клеток почки и легкого превышает процентное число клеток костного мозга на 33% и 34% соответственно (табл. 1).

Популяции клеток почки и легкого влияют на костный мозг, понижая значения $K_{\text{фаген}}$ клеток его популяции [3, 4]. С другой стороны, нами показано (1, 2 группы сравнения), что костный мозг действует на почку и легкое в обратном направлении: повы-

шая значения $K_{\text{фаген}}$ клеток этих органов. Следовательно, в норме почка и легкое вызывают переход популяции клеток костного мозга в качественно новое состояние, характерное для популяции с низким уровнем дифференцировки клеток, и, наоборот, костный мозг индуцирует в почке и легком появление в их популяциях субпопуляции высокодифференцированных клеток.

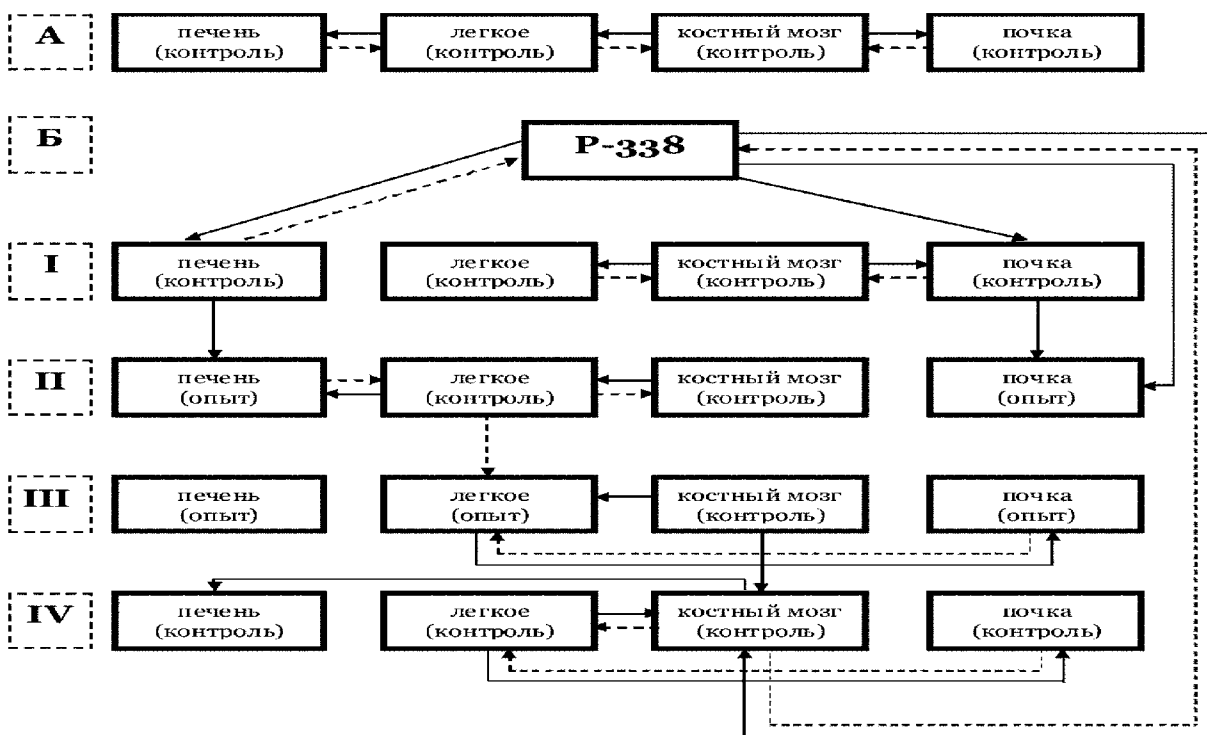


Рис.1. Схема взаимоотношений между органами до (А) и после (Б) перевивки животным лимфоцитарного лейкоза р – 388

I – IV – этапы изменения взаимоотношений между органами в организме-опухоленосителе.

- ← влияние объекта, вызывающее повышение значений $K_{\text{фаген}}$ в объекте-мишени;
- влияние объекта, вызывающее понижение значений $K_{\text{фаген}}$ в объекте-мишени.

Появление в организме опухолевых клеток вызывает каскад изменений во взаимоотношениях между изучаемыми органами. При этом, I-й этап данного процесса связан с действием непосредственно опухоли на печень и почку, повышая степень дифференцировки клетки в этих органах (рис. 1). II-й этап характеризуется тем, что под влиянием преобразованных клеток печени изменяется функциональное состояние генома клеток легкого в сторону снижения степени дифференцировки его клеток. В это же время исчезают существовавшие в норме регуляторные связи между костным мозгом и почкой. В силу того, что это обстоятельство может привести к изменению снабжения организма кислородом (в результате изменения синтеза эритропоэтина в почке) в организме по-видимому включается «аварийный» адаптационный механизм: связь между печенью (опыт) и легким (контроль).

III этап заключается в том, что, с одной стороны, происходит разрушение существовавших на II этапе связей между печенью (опыт) и легким (контроль), с другой – возникновение этих же связей между легким (опыт) и почкой (опыт). Причем эти связи аналогичны регуляторным связям между костным мозгом и почкой в контроле. В популяции клеток легкого (опыт) появилась достаточно многочисленная субпопуляция преобразованных клеток, которые по уровню функциональной активности своего генома оказались идентичны клеткам костного мозга контроля.

Для уточнения этого предположение мы сравнили распределение клеток легкого (контроль), легкого (опыт) и костного мозга (контроль) в 3-х разрядах общей гистограммы, включающей в себя гистограммы каждого из названных объектов (табл. 2). Под



влиянием печени (опыт) в легком (опыт) появилось 64% ($75 - 11 = 64$) низкодифференцированных преобразованных клеток, которые идентичны по своему функциональному состоянию модальному классу клеток костного мозга контроля (рис. 1, табл. 2).

Таблица 2

Процентное число клеток органов

Название объекта	Процентное число клеток органов в пределах 1 – 3 разрядов общей гистограммы		
	разряд		
	1	2	3
Легкое (контроль)	11	72	17
Легкое (опыт)	75	25	-
Костный мозг (контроль)	51	44	5

Эти клетки легкого возникли в процессе изменения функционирования их геномов, как следствие выключения или переключения работы их генов [3]. На IV этапе восстанавливаются подобно норме функциональные связи между легким (опыт) и костным мозгом (опыт), но с противоположным знаком. Так, если в норме костный мозг оказывал влияние на повышение степени дифференцировки клеток легкого, то после появления в легком преобразованных клеток, наоборот, легкое (опыт) индуцирует повышение степени дифференцировки клеток костного мозга (опыт). При этом появляется дополнительная, направленная на повышение дифференцировки гепатоцитов связь между костным мозгом (опыт) и печенью (опыт). После анализа полученных данных можно прийти к заключению, что в основе регуляторного механизма функционирования органов лежит принцип обратной связи: если один орган оказывает влияние на другой в одном направлении, то второй действует на первый в противоположном направлении. При действии на организм опухоли этот принцип нарушается. Причем действие опухоли включало в себя две стадии. Для первой стадии характерно то, что опухоль может оказывать прямое, то есть непосредственное влияние на любой орган-мишень лишь в том случае, если в опухоли имеется не менее трети клеток, идентичных по функциональной активности своего генома клеткам органа-мишени [3, 5]. Этот же механизм лежит в основе и 2-ой стадии действия опухоли на организм. Однако на этой стадии уже не опухоль, а «преобразованные» клетки органа-мишени вызывают изменение функциональных отношений между органом-мишенью и другими органами организма-опухоленосителя.

Таким образом, в основе нарушения гомеостаза при развитии опухолевого роста лежат изменения механизма регуляции между органами: уничтожение старых регуляторных связей и возникновение новых.

Литература

1. Взаимосвязь между модальным классом клеток и морфофункциональным состоянием популяции / И.П. Шабалкин [и др.] // «Доклады РАН», 2005. – Т.400, №4. – С. 553 – 556.
2. Количественные аспекты анализа многокомпонентной системы при переходе ее в качественно новое состояние / И.П. Шабалкин [и др.] // «Вестник РАМН». – 2004. – №12. – С.46 – 48.
3. Крыжановский, Г.Н. Дизрегуляторная патология / Г.Н. Крыжановский // Патогенез. – 2004. – №1. – С. 21 – 29.
4. Нарушение системных связей в организме при канцерогенезе / И.П. Шабалкин [и др.] // Доклады РАН. – 2000. – Т.375, №3. – С. 404 – 409.
5. Особенности изменения морфофункциональных отношений между органами при развитии в организме опухолей различного гистогенеза / И.П. Шабалкин [и др.] // Вестник РГМУ. – 2001. – №6 (21). – С. 45 – 50.

FEATURE OF MORPHOFUNCTIONAL STATE OF CELL POPULATIONS OF MODAL CLASS CELLS IN THE ACTION ON ORGANISM OF TRANSPLANTABLE LYMPHOCYTIC LEUKOSIS P – 388

**I.G. BOGUSH¹, P.I. SHABALKIN¹
A.S. YAGUBOV¹, T.V. PAVLOVA²**

*¹Laboratory of Molecular Biology
research methods of the Russian
Oncological Scientific Center
n/a N.N. Blokhin RAMS, Moscow*

*² Belgorod National
Research University*

e-mail: doc.bogush@mail.ru

Research has been spent on the model of transplantable lymphocytic leukemia p - 388. Object of research was a line of mice DBA₂. It is shown that homeostasis disturbance, conducting to the development of tumoral growth are resulted of regulation changes between the organs.

Key words: tumor cells, lymphocytic leukosis.