

УДК 575.24+576.6

И. А. РАПОПОРТ, Д. М. ЛЕВИНА, В. А. ПАРНЕС

## ИЗУЧЕНИЕ МУТАГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ОНКОГЕННОГО АДЕНОВИРУСА И ФЕРМЕНТАТИВНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПЛАСТИЧНОСТИ ОРГАНИЗМА

(Представлено академиком Н. П. Дубининым 29 IX 1969)

В предыдущей статье (1) были приведены материалы изучения мутагенной активности ДНК-содержащего вируса полиомы. Настоящая работа посвящена другому представителю ДНК-содержащих онкогенных вирусов — аденовирусу. Аденовирусы представляют особый интерес для использования в мутагенном эксперименте. Было показано, что ряд представителей аденовирусов человека (2), обезьян (3, 4), крупного рогатого скота (5), собак (6) и птиц (7) способны к индукции опухолей у гетерологичных хозяев. В случае аденовирусов птиц СЕЛО проявление онкогенных потенций связано с преодолением не только межвидового, но и межклассного барьера, поскольку этот птичий вирус вызывает в эксперименте опухоли у млекопитающих — хомяков. Имеются данные о способности аденовируса человека к инфекции насекомых (8).

Аденовирусы термостабильны, не инактивируются в течение двух недель при 22°С и незначительно инактивируются в течение 6 дней при 37°. Инфекция аденовирусами в естественных и экспериментальных условиях может осуществляться через пищеварительный тракт. Она сопровождается нарушениями в хромосомном аппарате (9, 10) и сдвигами клеточных энзимов (12).

Для исследования был взят аденовирус человека 12 типа (штамм Nile). Титр вируса в культуре клеток HeLa был  $10^{-3}$ , в первичнотрипси-низированной культуре клеток печени эмбриона человека  $10^{-5}$ . Опыты ставили на двух линиях дрозофилы ( $y^{3p}$  и  $D^{32}$ ) по методике, описанной в (13, 14). В опытах использовали личинок и взрослых самцов. Результаты исследования представлены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, увеличения частоты мутаций под влиянием аденовируса 12 типа не было отмечено. Дальнейшие исследования должны уточнить вопрос о размножении вируса в организме насекомых.

Полученный результат вполне согласуется с предшествующими опытами (14, 15) и не подкрепляет теорию, по которой мутагенный потенциал вируса является основным для его онкогенной активности. В (1) были приведены соображения в пользу возможной роли модификационного механизма в онкогенезе, не было дано анализа его ферментативного базиса.

Понятие модификации как ненаследственного изменения противостоит мутации. При мутациях возникает широкий спектр изменений — от

Таблица 1

Частота сцепленных с полом мутаций у *Drosophila melanogaster* на среде с аденовирусом человека 12 типа

Серия	Опыт		
	число исслед. хромосом	Число мутаций	
		абс.	в %
Опыт на личинках линии $D^{32}$	15816	16	0,101
На взрослых самцах линии $y^{3p}$	7854	3	0,038
Контроль фоновый, линии $D^{32}$	7500	9	0,120
Контроль фоновый, линии $y^{3p}$			0,200
Контроль на экспериментальной среде, линии $D^{32}$	8658	16	0,184
Контроль на экспериментальной среде, линии $y^{3p}$	4468	2	0,045

видимых до летальных. Обычно считают, наоборот, что модификации вызывают лишь колебания ограниченного диапазона, заданного геном признака, но индукция химических модификаций в корне изменила эту оценку. Эксперименты (16, 17) выявили способность модификаций вызывать, подобно мутациям, полный спектр глубоких перемен — видимые, физиологические и патологические, включая полuletальные и летальные. Между модификациями и мутациями остается, конечно, коренное различие, поскольку мутации охватывают переменные прерывистые, задающие генам собственный набор аллеломорфов, а модификации отличаются непрерывностью становления признака, зависящего от концентрации химического раздражителя. Несмотря на эти различия часто трудно по внешнему виду решить, является ли появившееся изменение модификацией или мутацией.

Для случая, когда модификация копирует мутацию, Р. Гольдшмидт предложил понятие фенокопии. Но в исследованных фенокопиях ему не удалось обнаружить охвата одним и тем же непрерывным наследственным изменением всего спектра аллеломорфов одного гена: слабых, умеренных, сильных, полuletальных и летальных проявлений признака. Именно с таким набором специфических модификаций, вплоть до копирующих действие генных леталей, удалось столкнуться в сотнях случаев анализа химических модификаций (16, 17). Из общего числа проанализированных на всех ступенях специфических хемоморфозов примерно 3—5% их поражали тем, что они начинались с появления меланотических включений, вообще типичных для известной группы так называемых опухолевых леталей дрозофилы. На этом основании такие модификации были отнесены к опухолевым фенокопиям. Поскольку в постнатальный период, характеризующийся значительно большей частотой новообразований, чем эмбриональный, морфогенез уже закончен, и появление четких внешних перемен, копирующих видимые мутации, невозможно, модификации затрагивают преимущественно метаболические процессы. Они обуславливают сдвиги физиологических и появление патологических признаков. Видимая модификация описана при действии на имаго дрозофилы (17), но она не характерна. Проследить у взрослых одну и ту же модификацию от начальной перемены до летального финиша трудно из-за отсутствия, как правило, видимого проявления ее. Между тем, наблюдая постепенное усиление модификаций во время метаморфоза, можно уловить, в какой момент и какая именно видимая модификация переходит в леталь на фоне неуклонного повышения активности модификационного агента. В сущности такой же переход от витальной перемены к летали должен происходить под влиянием химических веществ и у взрослых.

Формирование взрослого организма проходит через этапы дифференцировки и детерминации, начиная с дробления оплодотворенного яйца (иногда даже раньше в связи с собственной дифференцировкой яйца до оплодотворения). С генетической точки зрения между механизмами зависимой и независимой дифференцировки нет коренных различий. Существенное отклонение взрослого организма от жесткой печати эмбриональной дифференцировки нередко связывают с дедифференцировкой. Последняя, действительно, наблюдается, но это очень редкий феномен. Поэтому ссылки на дедифференцировку требуют в каждом случае специальных обоснований. Трудно согласиться, в частности, с тем, что неконтролируемой злокачественный рост во всех случаях есть результат устранения барьера, сложившегося при эмбриональной дифференцировке и исчезнувшего в результате дедифференцировки. Слишком много найдено вариантов опухолевого роста, чтобы даже одна сотая их определялась дедифференцировкой. Это заставляет искать иные объяснения. Если бы система дифференцировок взрослого организма, сложившихся в эмбриональный и ранний постнатальный периоды, обуславливала жесткую детерминацию, не ослабленную существенно дедифференцировкой, то это лишило бы его возможности приспособления.

Современная теория развития оставляет пробел, не досказывая что-то важное в характеристике средств, сообщающих взрослому организму высокую пластичность, иногда не уступающую эмбриональной. Так как основными средствами эмбриональной и ранней постэмбриональной дифференцировки служат ферменты, то можно предположить существование связи с ферментами разнообразных феноменов адаптируемости, а также регуляции циклических процессов, свойственных взрослому организму (митотических и пр.). Признание такой роли ферментов объясняет установление баланса между жестким и полужестким нормированием со стороны факторов дифференцировки, с одной стороны, и приспособительными регуляторными, а также циклическими процессами, с другой.

Между дифференцировкой в эмбриогенезе, протекающей под влиянием каталитических процессов, и каталитическим факторам регуляции жизненных функций у взрослого организма существует определенное сходство. Утрата организмом этого каталитического начала привела бы к лишению организма пластичности, нарушению правильной периодизации, цикличности размножения и других процессов.

Пластичность сложившегося организма позволяет ему противостоять воздействиям, угрожающим целостности организма. Велика роль ферментативного комплекса и в управлении циклическими и периодическими явлениями в организме, в создании средств, запускающих циклический процесс или тормозящих его развертывание. Он регулирует использование организмом разнообразных микроструктурных и метаболических резервов в зависимости от конкретной обстановки. Межуточные ферменты, помимо пластических функций, в большинстве случаев выполняют и самостоятельные синтезы. Без учета взаимодействия системы дифференцировки и ферментов, действующих во взрослом организме, схема каталитического равновесия была бы похожа на географическую карту, в которой есть координата широты, но отсутствует координата долготы. Можно предположить в самом общем виде, что нарушение связей отдельных ферментов во взрослом организме имеет своим следствием патологические, в том числе и неопластические изменения. Это предположение подкрепляют упомянутые выше наблюдения над индуцированными фенокопиями злокачественного роста у дрозофилы. В живой природе примеры сигнала полного «запрета» или «разрешения» встречаются гораздо реже, чем ограниченные «запреты» и «разрешения». В этом можно убедиться при наблюдениях за процессами размножения. В ранний период эмбриогенеза размножение преобладает над дифференцировкой или развертывается параллельно с ней. На более поздних этапах дифференцировка начинает преобладать над размножением, обычно в форме независимой дифференцировки и реже — зависимой. По завершении эмбриогенеза отдельные ткани, например, нервная ткань, вообще не способны к размножению. В эпителиальной и соединительных тканях размножение может протекать непрерывно или же оно ограничено. В механизмах полного или ограниченного «запрета» ведущую роль играют ферменты оперативного класса. Они способны приостанавливать клеточные деления, препятствуя образованию необходимой для размножения критической концентрации свободных мономеров, или другими способами. Необратимое блокирование размножения представляет, в общем, самый редкий случай. В нервной системе оно необходимо из-за появления помех, которые возникли бы в уже зафиксированной клетками информации при их разбавлении новыми клетками, в которых эта информация отсутствует. Заполнение последних новой информацией должно привести к появлению помех, существенным затруднениям в регистрации информационных и подаче исполнительных сигналов. Передача информации не улучшилась бы и в том случае, если бы она дублировалась после деления нервной клетки. Процесс размножения в большинстве других случаев не носит приспособительного характера. Он мог бы оказаться даже фатальным, поскольку при кратко-

временных или длительных стрессовых влияниях во взрослом организме наличие инертного механизма размножения значительно менее выгодно для организма, чем возможность располагать некоторым постоянным способным противостоять стрессу резервом. Как правило, такой страхующий подвижный резерв должен быть сопряжен с ферментами, функционирующими в тех же клетках, в которых отдельные звенья синтеза испытывают сильное внешнее воздействие. В этом и во всех других случаях имеется начальный внутренний запрет размножения, который снимается чувствительным оперативным ферментом, смягчающим этот запрет строго по мере необходимости. В подобной ситуации средствами одного лишь генетического аппарата без вмешательства оперативных ферментов было бы невозможно при морфогенной дифференцировке задать страховочный запас на любой случай внешнего влияния. Подвижная система набора оперативных ферментов взрослого организма управляет многими процессами, не обеспечиваемыми дифференцировкой. Вырабатываемые с участием этой системы продукты, от инертных до активных, влияют на концентрации ключевых для размножения веществ (в частности нуклеиновых кислот и аминокислот), тормозят начальные этапы митоза, действуют на процессы синтеза. До тех пор, пока нет сигналов, заставляющих каталитическую преграду размножения снизить порог контроля, в большинстве тканей взрослого организма размножение подавлено или не происходит. После подавления оперативного фермента, необходимого для упорядочения основных функций клеток взрослого организма и препятствующего размножению клеток, последнее может развернуться бесконтрольно и угрожать лавиной клеточных делений. Выключение механизма, регулирующего функцию оперативного фермента, особенно опасно тогда, когда прорыв барьера размножения совпадает со сдвигом метаболизма, вызванным модификационной по происхождению, но необратимой потерей фермента, направляющего важное звено в обмене веществ. Анализ химических фенокопий на уровне перехода от видимых к летальным мутациям<sup>(16)</sup>, как уже указывалось, не оставляет сомнения в возможности потери фермента в результате сильного модификационного влияния. При ограниченном отклонении, возникшем в результате блокирования, задерживающего деление оперативного фермента, тип деления может приблизиться к тому, который свойственен доброкачественному росту. Потеря блокирующего митозы ферментативного каталитического фактора неизбежно должна привести к высокому темпу, представляющему существенный момент в переходе к злокачественному росту.

Генезис большинства спонтанных и индуцированных неоплазм связан, по нашему мнению, не с соматическими мутациями, а с модификациями. Подобие «наследственности» создается для злокачественных клеток тем, что потеря «запирающего» фермента не вызывает гибели клеток и не мешает их размножению как на месте возникновения отрицательной модификации, так и после клеточной перевивки.

Институт экспериментальной и клинической онкологии

Академии медицинских наук СССР

Институт химической физики Академии наук СССР

Москва

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> И. А. Рапопорт, В. А. Парнес, Д. М. Левина, ДАН, 183, 1197 (1968).  
<sup>2</sup> J. J. Trentin, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., 127, 683 (1968). <sup>3</sup> R. N. Hull, I. S. Johnson et al., Science, 150, 1044 (1965). <sup>4</sup> N. P. Raposa, L. P. Mercov, M. Slifkin, Cancer Res., 27, 1887 (1967). <sup>5</sup> J. M. Darbyshire, Nature, 211, 102 (1966). <sup>6</sup> P. S. Sarma, W. Vass et al., Nature, 215, 293 (1967). <sup>7</sup> P. S. Sarma, R. J. Huebner, W. T. Lane, Science, 149, 1108 (1965). <sup>8</sup> А. Л. Беляев, Аденовирусы в организме насекомых, Кандидатская диссертация, 1968. <sup>9</sup> H. F. Stich, D. S. Yohn, Proc. Am. Assoc. Cancer. Res., 9, 67 (1968). <sup>10</sup> H. zur Hausen, J. Virol., 1, 1174 (1967). <sup>11</sup> W. W. Nichols, M. Peluse et al., Virology, 34, 303 (1968). <sup>12</sup> E. Bresnick, F. Rapp, Virology, 34, 799 (1968). <sup>13</sup> W. Burdette, Jong Sik Yoon, Science, 155, 340 (1967). <sup>14</sup> В. А. Парнес, И. А. Рапопорт, Д. М. Левина, ДАН, 182, 953 (1968). <sup>15</sup> И. А. Рапопорт, В. А. Парнес, Д. М. Левина, ДАН, 188, № 3 (1969). <sup>16</sup> I. A. Rapoport, Am. Natur., 81, 30 (1947). <sup>17</sup> И. А. Рапопорт, Тр. Инст. цитологии, 2, в. 1 (1948).

Поступило  
28 VIII 1969