

РЕАКЦИИ КЛЕТОК НЕЙРОБЛАСТОМЫ В КУЛЬТУРЕ НА ВВЕДЕНИЕ В СРЕДУ ТРЕТИОНИНА И НЕЙРОТОКСИНА

© Ю. А. Магакян,¹ З. А. Каралян, Е. М. Каралова, Л. О. Аброян,
Л. А. Акопян, А. С. Аветисян, З. Б. Семерджян

Институт молекулярной биологии НАН РА, Ереван;
¹электронный адрес: *tigmag@sci.am*

Исследовали влияние ретиноида третионина и нейротоксина хлорида алюминия на рост и дифференцировку клеток нейробластомы в культуре. Препараты вводили в среду как в отдельности, так и в смеси друг с другом. Введение этих веществ создает в среде новое информационное поле, что проявляется в реакциях нейробластомы, выявленных на популяционном и клеточном уровнях ее организации. Присутствие в среде третионина стимулирует пролиферацию и индуцирует дифференцировку клеток в астроциты. Хлорид алюминия ингибирует размножение клеток и усиливает процесс их разрушения в монослое. Различия в реакциях клеток на присутствие в среде этих веществ свидетельствует о наличии и функционировании в популяции нейробластомы механизма селекции из привнесенной в среду информации той ее части, которая способствует адаптации нейробластомы к новым условиям ее существования.

Ключевые слова: культура клеток, нейробластома, теория информации, третинин, хлорид алюминия.

Популяции соматических клеток гетерогенны по причине пребывания некоторой части клеток в «покое», пролиферации других, изменений в функционировании генетического аппарата в связи с дифференцировкой, неоднородностью микроусловий и пр. Вместе с тем каждая клеточная популяция обладает определенной устойчивостью, которая поддерживается механизмами авторегуляции. Клеточным популяциям свойственны многоуровневость их структурной организации и взаимозависимость уровней, между которыми идет постоянный обмен информацией, формирующейся в процессе самоорганизации популяции как системы и взаимообмена с другими клеточными популяциями (Price, 1955; Baily, 1967; Чернавский, 2009). Количество информации является математической мерой многообразия элементов системы (Baily, 1967; Шмальгаузен, 1968). Благодаря проявлению этих свойств *in vitro* культуры клеток часто используются как модели в различных экспериментах. Нейробластома, не являясь исключением, привлекательна еще и тем, что, несмотря на достаточно высокую пролиферативную активность (Никольский, 1984), сохраняет *in vitro* потенции к дифференцировке (Фридлянская, 1984; Scott et al., 1986). Это послужило основной причиной нашего предпочтения культуры нейробластомы в качестве экспериментальной модели для решения ряда интересующих нас вопросов. Согласно некоторым литературным данным (Scott et al., 1986; Toimela et al., 2004; Toimela, Tahti, 2004), предполагалось, что третионин способен индуцировать дифференцировку клеток, а хлорид алюминия — ингибировать их пролиферацию. Нам желательно было выяснить: 1) проявятся ли специфические свойства этих веществ при введении их в среду культивирования нейробластомы; 2) в слу-

чае положительного ответа на этот вопрос необходимо было определить характер и степень выраженности реакций клеток нейробластомы на создание в среде нового информационного поля в связи с введением в нее указанных активных соединений; 3) провести основанный на принципах теории информации анализ зависимости реакций нейробластомы на воздействие этих веществ от степени гетерогенности популяции.

Материал и методика

Клетки нейробластомы (клон SHSY-5Y) высевали в 6-ячейковые планшеты с покровными стеклами в количестве $2 \cdot 10^5$ клеток на 1 мл комбинированной среды Игла—МЕМ и F-14 (1 : 1) с добавлением 10 % бычьей сыворотки и глутамина и культивировали до образования монослоя. На 24-й ч в среду одной из групп ячеек вводили третионин, в другую на 48-й ч хлорид алюминия, в третью (последовательно) на 24-й ч третионин и на 48-й ч хлорид алюминия; еще одна часть ячеек с культурой оставалась интактной и служила контролем. Таким образом, третионин находился в среде 72 ч, хлорид алюминия — 48 ч, хлорид алюминия с третионином — также 48 ч. Общая продолжительность культивирования клеток составила 96 ч. Число повторностей опыта — 6. Дозу вводимого в среду хлорида алюминия определили по проявлениям степени его токсического влияния на монослой: [–] нет деструкции, [+] — начало разрежения монослоя, [++] — деструкция 25 % монослоя, [+++] — 50 %, [++++] — 75 % монослоя, [+++++] — разрушение 100 % клеток. Мы использовали раствор хлорида алюминия в концентрации

Таблица 1

Популяционные параметры интактной культуры нейробластомы и культур после введения в среду третионина и хлорида алюминия ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

Интактная культура и культуры после введения в среду третионина и хлорида алюминия	Параметры культуры нейробластомы		
	плотность монослоя (число клеток на 0.01 мм ²)	число делящихся клеток (митозы на 1000 клеток, ‰)	число разрушенных клеток в монослое, ‰
Интактная культура (контроль)	20.00 ± 1.30	0.30 ± 0.05	5.50 ± 4.01
Введение в среду			
Третионина (на 24-й ч)	22.30 ± 1.12	1.10 ± 0.30	2.60 ± 0.30
Хлорида алюминия (на 48-й ч)	28.70 ± 0.82	0.50 ± 0.05	16.40 ± 2.02
Третионина (на 24-й ч) и хлорида алюминия в ту же среду (на 48-й ч)	19.50 ± 0.61	1.00 ± 0.10	7.30 ± 2.10

7.5 мМ на $2 \cdot 10^5$ клеток, при которой не наблюдалось деградации монослоя [±]. Дозу вводимого в среду третионина (10 мкМ на $2 \cdot 10^5$ клеток) выбрали, основываясь на данных литературы (Fagooghi, 1994). Стеклянные чашки извлекали из ячеек, подсушивали на воздухе при комнатной температуре и помещали в 96%-ный этанол.

Для выявления ДНК препараты окрашивали по Фельгену в нашей модификации (Магакян, Каралова, 1989), для выявления РНК — галлоцианином и хромовыми квасцами (Sandritter et al., 1954), для цитоморфометрии — гематоксилином по Майеру и эозином (Ромейс, 1953), для выявления хроматина и ядрышек — метиловым зеленым и пиронином (Kurnick, 1950), для обзорных препаратов и фотографирования — крезоловым фиолетовым по Ниссли (Роскин, Левинсон, 1957).

Измерения масс ДНК ($\lambda = 575$ нм), РНК ($\lambda = 634$ нм) и цитоморфометрию производили на анализаторе изображений, сконструированном Л. С. Агроскиным и Ю. А. Магакяном на базе микроскопа-фотометра SMP-05 (Opton-Feintech, BRD), об. 100/1,30, ок. 25× на выходе оптического канала, светоприемник ФЭУ, сканирующий двухкоординатный (x—y) стол с шагом сканирования 0.5 мкм, УФ-монохроматор и цифровой гальванометр; в телевизионном варианте: ПЗС-видеокамера 1200 × 1200 пикселей (Bischket-Electronics, Япония); компьютер Pentium V, программное обеспечение (Universal Program of Image Analysis of Microobjects, UPIAM -2000) создано Ю. А. Магакяном, Г. В. Папаяном и А. Л. Капанцяном.

Определяли плотность монослоя (число клеток на 0.01 мм² поля зрения), долю разрушенных клеток (‰), активность пролиферации (количество митозов на 1000 клеток, ‰), число ядрышек в ядрах, распределение клеток в популяции по этому параметру (‰), массу ДНК в ядрах (усл. ед.), объем (мкм³) и площадь поверхностей ядер (мкм²), суммарную массу ДНК (усл. ед.) в ядрышках, объем и площадь поверхности ядрышек, массу РНК в цитоплазме, ядрах и ядрышках (усл. ед.). Диплоидным эквивалентом служила масса ДНК (усл. ед.) в ядрах лимфоцитов человека.

Определение количественных значений популяционных и клеточных параметров культур и фотографирование монослоя производили на 96-й ч культивирования. Количество информации в популяциях культуры нейробластомы до и после введения в среду третионина и хлорида алюминия оценивали с помощью методов математического анализа биологической информации (Baily, 1967;

Шмальгаузен, 1984; Чернавский, 2009). Данные обрабатывали статистически по программе SPSS (Дубнов, 2004). Вычисляли средние арифметические и средние взвешенные (Тейлор, 1985).

Результаты и обсуждение

Рассмотрим реакции нейробластомы на популяционном уровне ее организации в ответ на введение в среду третионина и хлорида алюминия. Видно (табл. 1), что плотность монослоя в культурах, в среду которых был введен третионин или третионин с хлоридом алюминия, практически не отличается от ее значений в интактной культуре. Самая высокая плотность монослоя и наибольшее число разрушенных клеток в нем наблюдаются в культуре, в среду которой вводили хлорид алюминия. Под влиянием третионина число разрушенных клеток в монослое снижается до минимума и оказывается даже в 2 раза ниже, чем в интактной культуре. В 3 раза по сравнению с интактной культурой повышается и активность пролиферации. Повышение активности пролиферации надо рассматривать не как непосредственный результат введения в среду хлорида алюминия, а как реакцию компенсации популяции клеток этой культуры в ответ на повышение числа разрушенных клеток в монослое (наглядный пример деятельности механизма авторегуляции).

При последовательном введении в одну и ту же среду третионина и хлорида алюминия в 3 раза возрастает по сравнению с интактной культурой активность пролиферации и в 2 раза уменьшается по сравнению с культурой, в среду которой вводили только хлорид алюминия, количество разрушенных клеток в монослое. По сравнению с контролем число разрушенных клеток не изменяется, а плотность монослоя не отличается от ее значений в интактной культуре и в культуре, в среду которой был введен только третионин.

Таким образом, достаточно сложные отношения между введенными в среду активными веществами и клетками нейробластомы наблюдаются уже на популяционном уровне (табл. 1).

В то же время полученные данные демонстрируют некоторые не вполне понятные особенности. Так, когда гибель клеток в монослое сильно возрастает (как в случае с введением в среду хлорида алюминия), плотность монослоя неожиданно для нас также увеличивается, а когда

Таблица 2

Клеточные параметры нейробластомы в интактной культуре и в культурах, в среду которых вводили третионин и хлорид алюминия ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

Параметры	Интактная культура (контроль)	Введение в среду		
		третионина	хлорида алюминия	третионина с хлоридом алюминия
Масса РНК цитоплазмы	66.2 ± 3.9	112.6 ± 5.1	57.3 ± 4.7	116.8 ± 4.3
Объем цитоплазмы	653.7 ± 28.2	483.3 ± 21.5	544.8 ± 22.6	844.0 ± 39.1
Масса РНК в ядрах	46.9 ± 2.6	64.5 ± 2.1	39.8 ± 4.1	75.0 ± 3.1
Объем ядер	169.8 ± 5.4	124.2 ± 3.2	132.3 ± 12.3	173.2 ± 6.9
Поверхность ядер	100.9 ± 2.3	76.5 ± 7.4	75.3 ± 7.1	109.0 ± 2.9
Суммарная масса РНК ядрышек	7.3 ± 0.4	9.6 ± 0.5	6.1 ± 1.1	10.9 ± 0.4
Суммарный объем ядрышек	5.9 ± 0.3	6.5 ± 0.3	5.6 ± 0.5	6.8 ± 0.3
Полная поверхность ядрышек	12.2 ± 0.6	13.0 ± 0.6	12.9 ± 1.2	13.9 ± 0.6

возрастает митотическая активность и гибель клеток уменьшается, значения плотности монослоя по сравнению с контролем не меняются. Изменения наблюдаются и на клеточном уровне организации нейробластомы. В табл. 2 приводятся значения масс РНК в цитоплазме и ядрах, объема и поверхности ядер, суммарной массы РНК в ядрышках, их суммарного объема и полной поверхности в интактной культуре и в тех культурах, в среду которых вводили отдельно или последовательно третионин и хлорид алюминия. Видно, что в случаях присутствия в среде только третионина или третионина вместе с хлоридом алюминия значения масс РНК в цитоплазме и ядрах и суммарной массы РНК в ядрышках повышаются по сравнению с интактной культурой и с культурой, в среду которой вводили только хлорид алюминия. В то же время под воздействием хлорида алюминия понижаются по сравнению с контролем значения масс РНК в цитоплазме, ядрах и ядрышках, объемов цитоплазмы и ядер, а также поверхности ядер. Вместе с тем следует отметить, что на такие параметры, как суммарный объем и полная поверхность ядрышек, введенные в среду активные вещества практически не влияют. И наконец, последнее: эксклюзивное влияние на объем цитоплазмы оказывает введение в одну и ту же среду третионина и хлорида алюминия (табл. 2). Видно, что при введении в среду только третионина или третионина с хлоридом алюминия повышаются значения масс РНК цитоплазмы, ядер и ядрышек по сравнению с контролем и с культурой, в среду которой вводили только хлорид алюминия. Присутствие этих веществ в среде влияет не только на фенотипические параметры популяции клеток нейробластомы, но и на параметры, имеющие прямое отношение к генетическому аппарату клеток — количеству ДНК в ядрах и ядрышках, объему и полной поверхности ядер и ядрышек. Таким образом, влияние информации, введенной в среду с активными соединениями, неоднозначно. Ядра отрицательно реагируют на нее почти по всем параметрам: значения содержания ДНК, объема и поверхности ядер при их введении снижаются по сравнению с контролем, но особенно заметно по сравнению с культурой, находившейся под совместным воздействием третионина и хлорида алюминия. Содержание ДНК при введении в среду только третионина не снижается по сравнению с контролем. Так же реагируют и ядрышки, но в отличие от ядер их реакция выражена сильнее по сравнению с контролем и с теми культурами, в среду которых вводили третионин и хлорид алюминия отдельно. Суммарные значения массы ДНК в ядрышках, объема и полной поверхности особенно сильно понижаются под воздействием хлорида алюминия. В интактной культуре значения всех параметров ядер и ядрышек выше, чем в культурах, в среду которых вводили третионин и хлорид алюминия. Остается заключить, что лучше всего чувствуют себя клетки интактной культуры (табл. 3).

нению с контролем и с культурой, в среду которой вводили только хлорид алюминия. Присутствие этих веществ в среде влияет не только на фенотипические параметры популяции клеток нейробластомы, но и на параметры, имеющие прямое отношение к генетическому аппарату клеток — количеству ДНК в ядрах и ядрышках, объему и полной поверхности ядер и ядрышек. Таким образом, влияние информации, введенной в среду с активными соединениями, неоднозначно. Ядра отрицательно реагируют на нее почти по всем параметрам: значения содержания ДНК, объема и поверхности ядер при их введении снижаются по сравнению с контролем, но особенно заметно по сравнению с культурой, находившейся под совместным воздействием третионина и хлорида алюминия. Содержание ДНК при введении в среду только третионина не снижается по сравнению с контролем. Так же реагируют и ядрышки, но в отличие от ядер их реакция выражена сильнее по сравнению с контролем и с теми культурами, в среду которых вводили третионин и хлорид алюминия отдельно. Суммарные значения массы ДНК в ядрышках, объема и полной поверхности особенно сильно понижаются под воздействием хлорида алюминия. В интактной культуре значения всех параметров ядер и ядрышек выше, чем в культурах, в среду которых вводили третионин и хлорид алюминия. Остается заключить, что лучше всего чувствуют себя клетки интактной культуры (табл. 3).

Таблица 3

Параметры ядер и ядрышек клеток нейробластомы в контроле и при введении в среду третионина и хлорида алюминия ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

Культуры	Ядра			Ядрышки (суммарные значения)		
	содержание ДНК, усл. ед.	объем, мкм ³	поверхность, мкм ²	содержание ДНК, усл. ед.	объем, мкм ³	поверхность, мкм ²
Интактная (контроль)	120.3 ± 3.8	263.9 ± 8.9	99.8 ± 2.8	12.0 ± 0.7	6.2 ± 0.3	10.0 ± 0.5
Введение в среду						
Третионина (на 24-й ч)	117.6 ± 2.4	227.9 ± 6.5	79.5 ± 2.0	8.2 ± 0.4	2.9 ± 0.2	3.5 ± 0.3
Хлорида алюминия (на 48-й ч)	106.4 ± 2.4	221.2 ± 8.5	79.5 ± 2.0	5.8 ± 0.5	2.6 ± 0.1	3.9 ± 0.2
Третионина (на 24-й ч) и хлорида алюминия в ту же среду (на 48-й ч)	95.1 ± 2.2	164.8 ± 7.6	71.7 ± 1.4	8.4 ± 0.5	3.8 ± 0.3	8.0 ± 0.5

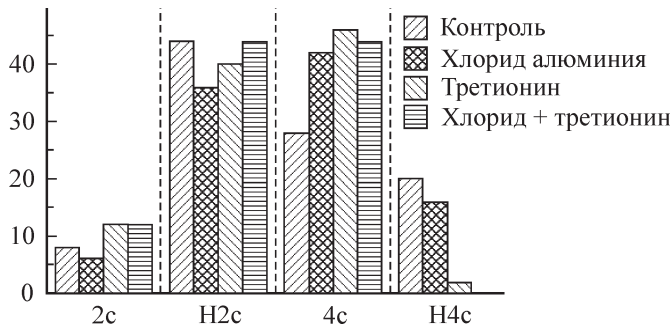


Рис. 1. Распределение клеток в популяции нейробластомы по содержанию ДНК в их ядрах в интактной культуре и в культурах, находившихся под действием третионина, хлорида алюминия или третионина с хлоридом алюминия.

По горизонтали — содержание ДНК (в единицах с); по вертикали — число клеток, %.

Мы уже отмечали, что популяции культур клеток гетерогенны по своему составу. Гетерогенность распространяется и на такие параметры, как распределение клеток в популяции по содержанию в их ядрах ДНК и по числу ядрышек в ядрах. На рис. 1 видно, что клетки с содержанием ДНК в ядрах, равным 2с, составляют наименьшую долю в популяциях всех культур, но меньше всего таких клеток обнаруживается в популяции культуры, в среду которой вводили хлорид алюминия. В культурах, в среду которых вводили третионин или третионин с хлоридом алюминия, 2с-клеток в 1.5 раза больше, чем в интактной культуре (рис. 2). Клетки с содержанием ДНК меньше 2с отсутствуют во всех популяциях, а больше всего клеток с содержанием ДНК $\geq 2с$ и 4с. Доля $\geq 4с$ -клеток в популяциях мала: во всех культурах их обнаружено меньше, чем в интактной, а в культуре, в среду которой вводили третионин с хлоридом алюминия, таких клеток нет вообще. Характер распределения клеток по содержанию ДНК в ядрах для исследованных нами культур фактически отражает картину распределения клеток по этому показателю, присущую вообще активно размножающимся популяциям, с поправкой на различия в митотической активности клеток, различия в скорости прохождения ими митотического цикла и продолжительности пребывания их на тех или иных его фазах. Поскольку

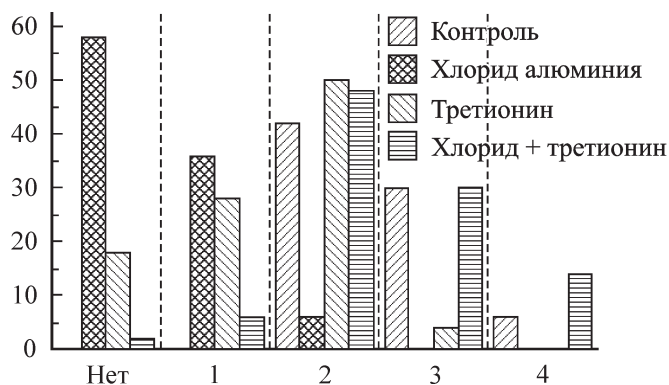


Рис. 2. Распределение клеток по числу ядрышек в их ядрах в интактной культуре (контроль) и в культурах, в среду которых вводили хлорид алюминия, третионин и третионин с хлоридом алюминия.

По горизонтали — количество ядрышек в ядрах; по вертикали — число клеток, %.

клетки в культуре нейробластомы интенсивно делятся (см. табл. 1), естественно ожидать, что они могут находиться на различных фазах митотического цикла, в связи с чем содержание ДНК в их ядрах будет варьировать от $\geq 2с$ до $\geq 4с$.

Полученные ранее как нами, так и другими авторами данные о том, что в нейрональных культурах количество ДНК в ядрах клеток сильно варьирует и что полиплоидия — достаточно частое явление в популяциях трансформированных клеток (Никольский, 1984; Магакян и др., 1985, 2009), подтверждаются лишь в той части, которая относится к вариабельности содержания ДНК в ядрах. Что же касается полиплоидии, то можно считать, что, поскольку в данном исследовании октаплоидных клеток ни в одной из популяций не было выявлено, появление клеток с «промежуточными» значениями содержания ДНК в ядрах ($\geq 2с$ до $\geq 4с$ ДНК) объясняется в первом случае прохождением ими S-фазы клеточного цикла, а во втором — пребыванием их в фазе G_2 , но никак не с началом их полиплоидизации. Различия же в числе клеток с теми или иными значениями «с» могут быть обусловлены различиями в скорости размножения клеток в культурах, подвергшихся воздействию того или иного активного вещества (табл. 1).

Представляют интерес данные о распределении клеток нейробластомы по числу ядрышек в их ядрах. Считается, что сам факт образования ядрышек в ядрах, их размеры и количество являются свидетельством повышения функциональной активности клеток (Мамаева, 1998). В исследованиях, проведенных на культурах трансформированных клеток, было выявлено повышение активности клеток (Cocker, 1990; Мамаев, Мамаева, 1990; Derenzini et al., 1991), коррелирующее с увеличением числа ядрышек в ядрах (Slater et al., 1992).

Как видим, в популяции интактной культуры больше всего дву- и трехъядрышковых клеток. Присутствуют в небольшом числе четырехъядрышковые клетки. Безъядрышковые и одноядрышковые клетки отсутствуют. В культуре, в среду которой вводили хлорид алюминия, напротив, самую большую долю в популяции составляют безъядрышковые и одноядрышковые клетки. Двухъядрышковые намного меньше, а трех- и четырехъядрышковых вообще нет. Это должно свидетельствовать, если исходить из приведенных выше литературных данных, о том, что хлорид алюминия подавляет функциональную активность клеток. В популяции культуры, в среду которой вводили третионин, доля безъядрышковых и одноядрышковых клеток сокращается, а число двухъядрышковых клеток возрастает до 50 % в популяции. В распределении клеток по числу ядрышек в популяции культуры, в среду которой последовательно вводили третионин и хлорид алюминия, наблюдается резкое сокращение доли безъядрышковых и одноядрышковых клеток и увеличение числа клеток с 2 и 3 ядрышками в ядрах. Отметим также появление в популяции достаточно заметного числа клеток с 4 ядрышками в ядрах. Все это, как указывалось выше, должно свидетельствовать о повышении функциональной активности клеток в этих культурах. Таким образом, введение в среду только хлорида алюминия подавляет клеточную активность, а введение его на фоне третионина на клеточной активности не сказывается.

Из представленного материала следует, что число ядрышек в ядрах можно считать достаточно динамичным и реактивным показателем степени активности клеток в культуре, весьма чувствительным к разного рода воздей-

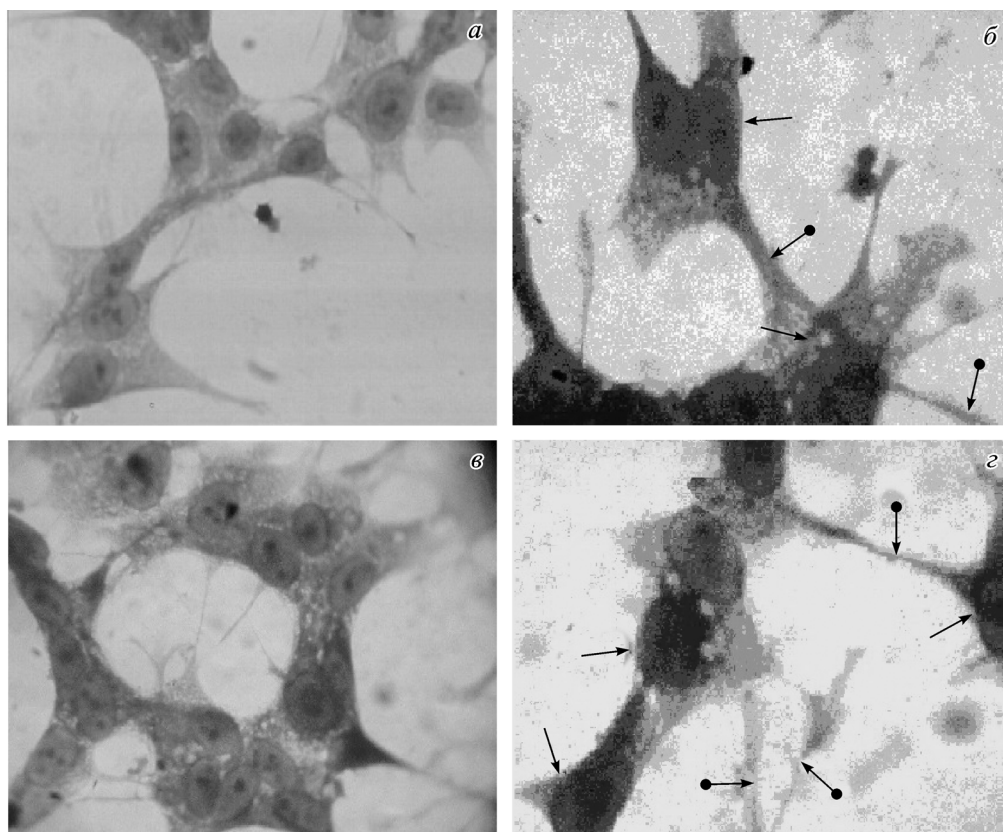


Рис. 3. Культура клеток нейробластомы.

a — интактная культура, монослой состоит из крупных, плотно прилегающих друг к другу клеток; *б* — введение третионина, формирование астроцитов (стрелки) и аксонов (стрелки с кружочками); *в* — введение хлорида алюминия: уменьшение размеров клеток, увеличение межклеточных пространств, вакуолизация цитоплазмы; *г* — введение третионина и хлорида алюминия, разрежение монослоя, видны астроциты с удлинившимися аксонами (стрелки). Увел.: об. 90/1.25, ок. 10×.

ствиям, что ранее было описано нами (Магакян и др., 2006; Magakyan et al., 2009) и другими упомянутыми выше авторами.

Итак, нами показано, что в результате введения в среду культуры нейробластомы третионина и хлорида алюминия в ней проявляются на всех уровнях ее организации от субклеточного до популяционного в достаточно широком спектре количественные реакции в ответ на присутствие в среде этих активных соединений. Приводимые ниже микрофотографии позволяют судить и о качественных изменениях в культуре нейробластомы под воздействием этих соединений (рис. 3).

В то время как монослой интактной культуры образован крупными, плотно прилегающими друг к другу клетками (рис. 3, *a*), присутствие третионина в среде, как и можно было ожидать, индуцирует дифференцировку клеток в астроциты (рис. 3, *б*). Здесь необходимо отметить, что уже достаточно давно (Магакян и др., 1985), причем без применения каких-либо стимулирующих агентов, мы наблюдали в органотипической культуре мозжечка крысы формирование нейронов с дендритами и нейритами, синтез ДНК в ядрах нейронов (при отсутствии их деления) и образование в результате этого клеток с повышенным содержанием ДНК в ядрах. Под воздействием хлорида алюминия уменьшаются размеры клеток, увеличиваются межклеточные пространства и степень вакуолизации цитоплазмы (рис. 3, *в*). При введении в среду хлорида алюминия в сочетании с третионином цитопатическое действие на клетки выражено слабее, увеличивается

плотность монослоя, а третионин, как и при введении его в среду отдельно от хлорида алюминия, индуцирует дифференцировку клеток в астроциты (рис. 3, *г*).

Чтобы подвести итоги исследований реакций структурных элементов нейробластомы на введение в среду биологически активных соединений, рассмотрим вопрос о взаимодействии информации, внесенной в среду с третионином и хлоридом алюминия, с той информацией, которой обладала к этому моменту многоуровневая клеточная система нейробластомы. Будем исходить из того, что введение в среду культуры нейробластомы этих соединений создает в ней новое информационное поле, в котором полностью представлены и старая, и новая информация. Возникает вопрос: насколько полно воспринимается информация каждого из введенных в среду активных соединений и какое место она может занять в тех объемах информации, которыми обладали структурные элементы нейробластомы до введения этих веществ в среду? Результаты проведенного нами и представленного выше биологического анализа свидетельствуют о том, что информация, привнесенная в среду ее носителями — третионином и хлоридом алюминия, — по-разному воспринимается структурными элементами системы. Некоторыми из них она попросту отвергается, для других, даже если эта информация прочитана и включена в тот объем информации, которым стал обладать структурный элемент, это не всегда приводит к положительным результатам. Исходя из этого можно полагать, что в системе структурных элементов популяции нейробластомы имеется меха-

низ селекции полезной для них и в конечном итоге для системы в целом информации. Именно в этом проявляется способность популяции к адаптации и продолжению существования в изменившихся условиях.

В теории информации математической мерой приспособления элементов в системе популяции и самой популяции к изменившимся условиям является количество информации (H), соответствующее сумме отрицательных логарифмов вероятностей всех вариантов (p_i):

$$H = -\sum \log p_i, \quad (1)$$

представляющие собой формализованное выражение материальной основы адаптации элементов системы и самой системы популяции в целом к изменившимся условиям культивирования. Его значение тем выше, чем гетерогеннее структура популяции, и стремится к нулю при возрастании ее гомогенности. Сказанное иллюстрируется микрофотографиями (рис. 3). Даже при визуальном сравнении клеточного состава монослоя интактной культуры с клеточными составами монослоев культур, в среду которых вводили биологически активные вещества, повышение уровня гетерогенности клеточного состава монослоев последних очевидно. Можно прибегнуть к определению среднего количества информации, приходящейся на один элемент, т. е. на одну клетку, в популяции. Поскольку количество информации зависит от объема привнесенного в среду сообщения, очевидно, что общее количество информации определяется произведением суммы информации, приходящихся на одну клетку, по отдельным элементам популяции, т. е. численности этого элемента, отнесенной к общему числу всех элементов в популяции:

$$I = -\sum p_i \log p_i. \quad (2)$$

На основании уравнения (2) приходим к выводу о том, что для популяции в целом наибольшее значение имеют те клетки, которые уже приобрели некоторый удельный вес в ее составе. В нашем случае это дифференцированные клетки — астроциты. Математически это выглядит так:

$$l_i = -p_i \log p_i. \quad (3)$$

Следовательно, величина средней информации, вносимая отдельным элементом (l_i), изменяется при изменении его удельного веса в популяции от 0 до 1, возрастая по мере его увеличения, т. е. увеличения числа подобных клеток (p), и снижаясь соответственно его оценке ($-\log p$). Поэтому количество средней информации максимально при средних объемах данного варианта. Когда же новый вариант (т. е. подобные клетки) увеличивается в числе, он теряет новизну и определяет состав новой (становящейся уже обычной) нормы. Очевидно, что величина средней информации при этом все более приближается к 0. Отсюда следует, что максимум новой информации определяет неустойчивое состояние популяции, а минимум — высокую степень устойчивости. Если снова вернуться к микрофотографиям (рис. 3), то хорошо видно, что популяция клеток монослоя интактной культуры, состоящая из однородных клеток (рис. 3, а), гораздо более устойчива по сравнению с гетерогенными популяциями (рис. 3, б, в). Даже монослой культуры, в среду которой вводили хлорид алюминия (рис. 3, в), устойчивее, чем гетерогенные монослои (рис. 3, 4). Хлорид алюми-

ния, жестко подавляя функционирование клеток одновременно во всей их массе, создает тем самым новый уровень гомогенности популяции. Третионин же, индуцируя дифференцировку клеток, повышает ее гетерогенность. В уравнение (4)

$$\Delta p = pq / (1 - qs) \quad (4)$$

мы ввели два новых понятия: численность гомологичных вариантов (q) и коэффициент их селекции (s). Это уравнение математически более точно оценивает биологический смысл коэффициента s : при малых величинах s значение дроби $s/(1 - qs)$ уменьшается, приближаясь к значению s . При максимальном значении, когда s близко или равно 1 (т. е. при элиминации одного из вариантов), эффективность селекции все более зависит от численности элиминируемого варианта, а так как $1 - q = p$, то $\Delta p = q$. Это означает, что коэффициент s является биологически значимой величиной и оценка каждого из вариантов определяется его весом, т. е. числом гомогенных клеток, в популяции и положением в ней, т. е. значимостью s в популяции. Очевидно, что это положение должно утрачиваться по мере насыщения популяции каким-либо из вариантов (гомогенными клетками). С позиций теории информации оценка варианта понижается по мере увеличения его численности в популяции (Baily, 1967). Например, это могло бы произойти в случае дифференцировки всех или большинства клеток в популяции нейробластомы в астроциты. Но этого реально не происходит, поэтому популяции, отображенные на рис. 3, б, в остаются гетерогенными по клеточному составу с высокой оценкой.

Итак, подводя итоги нашему исследованию в целом, мы приходим к следующим выводам: 1) третионин и хлорид алюминия действительно являются высокоактивными соединениями с разнонаправленными векторами воздействия на клетки; 2) введение этих соединений в среду, где культивировали клетки нейробластомы, порождает ответные реакции на всех уровнях ее организации от субклеточного до популяционного; 3) при последовательном введении третионина и хлорида алюминия в одну и ту же среду их свойства и активность проявляются независимо друг от друга; 4) в системе клеточной популяции нейробластомы обнаружена деятельность механизма селекции из поступившей в среду при введении третионина и хлорида алюминия информации, способствующей адаптации системы к изменившимся условиям; 5) полученные нами результаты свидетельствуют о возможности использования свойств этих веществ, в первую очередь нейротоксина — хлорида алюминия как ингибитора пролиферации клеток — при лечении онкологических новообразований. Может быть также перспективным использованием ретиноида третионина в качестве стимулятора целенаправленной дифференцировки нейрональных клеток.

Список литературы

- Дубнов П. Ю. 2004. Обработка статистической информации с помощью SPSS. М.: АСТ NT Press. 220 с.
 Магакян Ю. А., Каралова Е. М. 1989. Цитофотометрия ДНК. Ереван: Изд-во АН АрмССР. 204 с.
 Магакян Ю. А., Каралова Е. М., Аброян Л. О., Акопян Л. А. 2006. Поведение клеток лимфоидной популяции, их ядер и ядрышек при периодической болезни и лейкозе. Бюл. эксперим. биол. мед. 145 (2) : 162—166.

- Магакян Ю. А., Каралян З. А., Каралова Е. М., Абро-
ян Л. О., Акопян Л. А., Гаспарян М. Г., Джжагацпанын Н. Г., Се-
мердзьян З. Б., Тер-Погосян З. Р. 2009. Многопараметрическое
исследование и кластер-анализ перевиваемых культур клеток
человека. Цитология. 51 (1) : 18—23.
- Магакян Ю. А., Наджарян Н. У., Колтухчева Н. А. 1985. Со-
держание и синтез ДНК в ядрах клеток мозжечка крысы в услови-
ях органотипической культуры. Цитология. 27 (9) : 1001—1010.
- Мамаева С. Е. 1984. Цитогенетика клеток в культуре.
В кн.: Биология клетки в культуре. Л.: Наука. 195—234.
- Никольский Н. Н. 1984. Пролiferация клеток в культуре.
В кн.: Биология клетки в культуре. Л.: Наука. 10—49.
- Ромейс Б. 1953. Микроскопическая техника. М.: Изд-во
иностр. литер. 718 с.
- Роскин Г. И., Левинсон Л. Б. 1957. Микроскопическая тех-
ника. М.: 467 с.
- Тейлор Дж. 1985. Введение в теорию ошибок. М.: Мир.
320 с.
- Фридлянская И. И. 1984. Постоянные клеточные линии,
дифференцирующиеся *in vitro*. В кн.: Биология клетки в куль-
туре. Л.: Наука. 50—100.
- Чернавский Д. С. 2009. Синергетика и информация. Дина-
мическая теория информации. М. 304 с.
- Шмальгаузен И. И. 1968. Кибернетические вопросы био-
логии. Новосибирск: Наука. 224 с.
- Aremu D. A., Meshitsuka S. 2005. Accumulation of aluminum
by primary cultured astrocytes from aluminum amino acid complex
and its apoptotic effect. Brain Res. 1031 (2) : 284—296.
- Baily N. T. Y. 1967. The mathematical approach to biology and
medicine. Wiley & Sons Ltd. 326 p.
- Biedler J. L. 1978. Multiple neurotransmitter synthesis by hu-
man neuroblastoma cell lines and clones. Cancer Res. 38 : 3751—
3757.
- Campbell A., Hamai D., Bondy S. C. 2001. Differential toxic-
ity of aluminum salts in human cell lines of neural origin: implica-
tions for neurodegeneration. Neurotoxicology. 22 (1) : 63—71.
- Crocker J. 1990. Nucleolar organizer regions. Curr. Top. Pa-
thol. 82 : 91—149.
- Farooqui S. M. 1994. Induction of adenylate cyclase sensitive
dopamine D2-receptors in retinoic acid induced differentiated hu-
man neuroblastoma SHSY-5Y cells. Life Sci. 55 (24) : 1887—
1893.
- Knowles B. B. 1980. Human hepatocellular carcinoma cell li-
nes secrete the major plasma proteins and hepatitis B surface anti-
gen. Science. 209 : 497—499.
- Kurnick N. B. 1950. Methylgreen-pyronin. I. Basis of selective
staining of nucleic acids. J. Gen. Physiol. 33 : 243—264.
- Magakian Yu. A., Karalova E. M., Karalyan Z. A., Abroy-
an L. O., Akopyan L. A., Gasparyan M. G., Dzhagatspanyan N. G.,
Semerdzhyan Z. B., Ter-Pogosyan Z. R. 2009. Multiparametric stu-
dy and cluster analysis of transplantable human cell cultures. Cell
Tissue Biol. 3 (1) : 33—41.
- Mamaew N. N., Mamaewa S. E. 1990. Nucleolar organizer re-
gion activity in human chromosomes and interphase nuclei of nor-
mal, leukemic, and tumor cells as evaluated by silver staining. Int.
Rev. Cytol. 121 : 233—266.
- Mamaewa S. E. 1998. Karyotypic evolution of cells in culture:
a new concept. Int. Rev. Cytol. 178 : 1—40.
- Moore A. E. 1955. Culture characteristics of four permanent li-
nes of human cancer cells. Cancer Res. 15 : 598—602.
- Moore A. E. 1958. Tumorigenic activity of cultures. Ann.
N. Y. Acad. Sci. 76 : 497—505.
- Price G. R. 1955. Science and the supernatural. Science. 122 :
359—367.
- Ross R. A. 1983. Coordinate morphological and biochemical
interconversion of human neuroblastoma cells. J. Nat. Cancer Inst.
71 : 741—749.
- Sandritter W., Diefenbach H., Krantz F. 1954. Über die quanti-
tative Bindung von Ribonukleinsäure mit Gallocyaninchromalaum.
Experientia. 10 : 210—215.
- Scott I. G., Akerman K. E., Heikkila J. E., Kaila K., Anders-
son L. 1986. Development of a neural phenotype in differentiating
ganglion cell-derived human neuroblastoma cells. J. Cell. Physiol.
128 (2) : 285—292.
- Slater L. M., Sweet P., Hsu T. C., Chan P. K. 1992. Novel nuc-
leolar and nuclear morphology in a vincristine-dependent human leu-
kemic cell line. Exp. Cell Res. 198 : 170—174.
- Toimela T., Maenpaa H., Mannerstrom M. T., Tahti H. 2004.
Development of an *in vitro* blood-brain barrier model-cytotoxicity
of mercury and aluminum. Toxicol. Appl. Pharmacol. 195 (1) :
73—82.
- Toimela T., Tahti H. 2004. Mitochondrial viability and apopto-
sis induced by aluminum, mercuric mercury and methylmercury in
cell lines of neural origin. Arch. Toxicol. 78 (10) : 565—574.

Поступила 16 II 2010

THE REACTION OF THE NEUROBLASTOMA CELLS IN THE CULTURE
ON THE INFLUENCE OF TRETIONINE AND NEUROTOXINE

Yu. A. Magakian, Z. A. Karalyan, E. M. Karalova, L. O. Abroyan, L. A. Akopyan,
A. S. Awetisyan, Z. B. Semerdzhyan

Institute of Molecular Biology NAS RA, Yerevan;
e-mail: tigmag@sci.am

Effect of the tretionine (retinoid) and aluminum chloride (neurotoxin) on the growth and differentiation of neuroblastoma cells in culture after their introduction into the medium separately and in combination was studied. The introduction of these substances creates a new information field in the medium, which becomes apparent by the reactions of neuroblastoma found on the populational and cellular levels of its organization. The presence of tretionine stimulates proliferation and induces differentiation of the cells into astrocytes. Aluminum chloride inhibits cell proliferation and enhances the process of their destruction in the monolayer. The variety of the reactions of neuroblastoma cells to the presence of these substances in the medium indicates the existence and functioning of a mechanism that selects from the information introduced only the portion which may contribute to adaptation of neuroblastoma cells to the changed culture conditions.

Key words: aluminum chloride, cell culture, information theory, neuroblastoma, tretionine.