

ІНГІБУВАННЯ РОСТУ ПУХЛИН РОСЛИН ПРОТИПУХЛИННИМИ ПРЕПАРАТАМИ АМІТОЗИНОМ ТА ЙОГО АНАЛОГОМ АМІТОЗИНОБЕРАМІДОМ

Юркевич Л.Н., Потопальська Ю.А., Негребецька Е.М.

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

Представники різних класів тваринних організмів (нематоди, комахи), примітивні рослини-гриби, а також бактерії та віруси діють на рослини різними способами, порушуючи та змінюючи розвиток клітин, тканин, органів, призводячи до утворення пухлин. Серед причин генетичного утворення пухлин на рослинах відзначають мутації рослинних генів або наявність в геномі рослин послідовностей онкогенів агробактерій, при бактеріальному переносі генів у процесі еволюції [1].

В природі широко відомі пухлини рослин, які супроводжуються тканинною проліферацією. Серед них особливу увагу привертають пухлини, які викликаються фітопатогенною бактерією *Agrobacterium tumefaciens*, що має Ті-плазмиду, яка зумовлює «корончатий гал» або бактеріальний рак. Плазміда виступає як ініціатор процесу, в подальшому він протікає і без її присутності [1-2].

Пухлини рослин цього виду мають основні ознаки, які властиві злоякісним новоутворенням тварин і людини: автономний нерегульований ріст, трансплантабельність та агресивність. Ці пухлини можуть рости на культуральному середовищі при відсутності ростових фітогормонів, які необхідні для росту нормальних тканин. Тому вони використовуються в дослідках, метою яких є виявлення певних фундаментальних біологічних конценцій, що лежать в основі розуміння пухлинних процесів взагалі та для вивчення протипухлинної дії ряду препаратів [2-4].

Нами проведені дослідження на пухлинах рослин, індукованих бактерією *Agrobacterium tumefaciens*, з метою виявлення протипухлинної дії ефективних препаратів амітозину та амітозинобераміду, рекомендованих до широкого клінічного випробування [6].

Матеріали та методи дослідження. Дослідження проводили на моделі пухлин рослин каланхоє (*Kalanchoe daigremontiana*) та томатів сорту «Український солестійкий», індукованих високовірулентним штамом *Agrobacterium tumefaciens* 8628. Для дослідів були дібрані рослини каланхоє і томатів одного віку, які мали однакову висоту і товщину стебла. Зараження агробактерією проводили в товщу листової пластинки або методом декапітації. Для цього рослини каланхоє в фазі 5-7 листків декапітували скальпелем. А через 15-30 хв. на поверхню зрізу наносили 2-х добову суспензію агробактерій в дозі 1×10^8 клітин.

Рослини томатів сорту «Український солестійкий» інокулювали агробактерією на стадії плодоношення і початку дозрівання плодів. Протягом усього дослідного періоду рослини витримували при температурі 25-28°C.

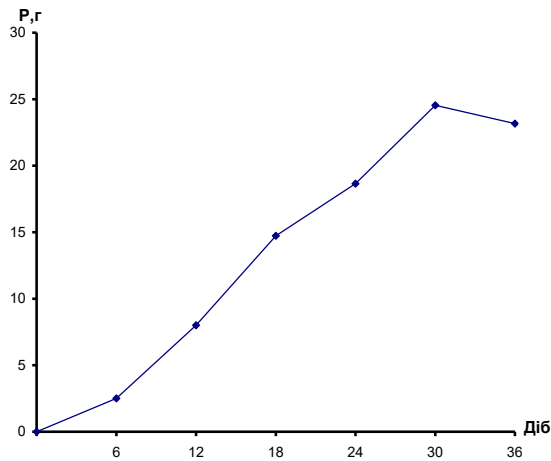
Зміни маси корончатоголових пухлин та виявлення протипухлинної активності препаратів амітозину та амітозинобераміду досліджували на пухлинах рослин каланхоє. Контроль – обробка пухлин водою. Розміри пухлин визначали через кожні 5-6 днів. Об'єм їх вираховували за формулою:

$$p = \frac{a \cdot b \cdot c}{4}, \quad \text{де } a - \text{ширина, } b - \text{довжина, } c - \text{висота пухлини.}$$

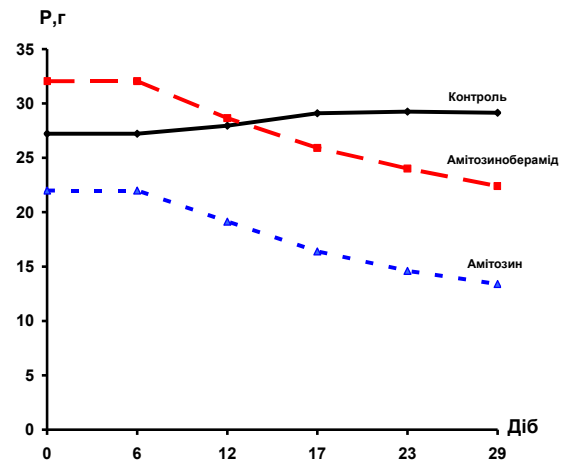
Поскільки питома вага пухлинної тканини приближена до одиниці, тому кількісно маса пухлини прирівнювалася до її об'єму.

Для виявлення інгібуючої дії на пухлини рослин протипухлинних препаратів їх розчини в концентрації 0,1 мкг/мл наносили на пухлини у вигляді аплікацій, починаючи з 15-го дня після інокуляції агробактерій по 1-2мл в залежності від розміру пухлин.

Результати досліджень. Виходячи з літературних джерел, перші симптоми появи пухлин на рослинах при штучному зараженні з'являються на 10-30-й день у вигляді невеликих валиків і горбиків білого або світло-зеленого кольору на стеблі чи листку [2]. Аналогічне явище ми спостерігали і в наших дослідах. За нашими даними кінетична крива росту пухлин на стеблі каланхоє має S-подібну форму (мал.1). Кінетичні виміри показують, що швидкість розвитку пухлин каланхоє, індукованих агробактерією, спочатку



Мал. 1. Кінетична крива росту маси пухлин, індукованих *Agrobacterium tumefaciens* 8628 на рослинах каланхоє (*Kalanchoe daigremontiana*)



Мал. 2. Кінетичні криві зміни маси пухлин на рослинах каланхоє, заражених *A. tumefaciens* 8628 під впливом протипухлинних препаратів

зростає, а через 30 діб починає зупинятися, напевно, завдяки якимось лімітуючим факторам. Це свідчить про те, що пухлини на рослинах розвиваються за тими ж кінетичними законами, що і пухлини тварин та людини [2,5,7].

Після 3-х разової обробки пухлини на томатах амітозином спочатку спостерігали некроз поверхневих клітин пухлини. Через 20 діб після обробки на пухлині томатів з'являлися темні плями (некроз), а через 60 діб пухлина повністю некротизувала. Після некрозу пухлини томати продовжували нормально розвиватися і плодоносити.

На пухлинах рослин каланхоє некроз поверхневих клітин з'явився після 4-х разової обробки, а некротична пляма з'явилася через 70 діб після обробки.

Явище повного некрозу на вторинних пухлинах тих же рослин, які не піддавалися дії препарату, не спостерігали, але темп їхнього росту уповільнювався та з'являвся незначний некроз поверхневих клітин.

При вивченні інгібуючої дії препарату амітозину встановлено, що починаючи з 6-го дня після нанесення препарату, спостерігається регресія пухлин. Середня маса пухлин з $22,0 \pm 6,35$ г за період дії препарату амітозину (29 діб) зменшилася до $13,11 \pm 5,75$ г, а після дії препарату амітозинобераміду на пухлини каланхоє за цей же період також зменшилася з $32,05 \pm 6,12$ до $22,4 \pm 4,91$ г. Кінетична крива зміни маси пухлин при дії препарату амітозинобераміду аналогічна кривій при дії препарату амітозину (мал. 2). В

контрольному варіанті (вода) спочатку спостерігали незначне зростання маси пухлин, яке після 3-х разової обробки стабілізувалося (мал. 2).

Висновки. При експериментальному вивченні протипухлинної дії препаратів амітозину та амітозинобераміду на рослинній моделі каланхос встановлено, що вони в концентрації 0,1 мг/мл (протягом 29 діб) інгібують розвиток пухлин, індукованих вірулентною *Agrobacterium tumefaciens*, не впливаючи на розвиток рослин.

Встановлено, що на пухлині томатів амітозин в концентрації 0,1 мг/мл за період в 60 діб призвів до повного некрозу корончатогогалової пухлини.

Одержані дані підтверджують доцільність широкого вивчення промислового застосування цих препаратів.

Література

1. Пирузян Э.С., Андрианов В.М. Плазмиды агробактерий и генетическая инженерия растений. -М.: Из-во «Наука», -1985. -251 с.
2. Потопальський А.І., Ткачук З.Ю. Пухлини і нарости у рослин. –Київ: «Вища школа». -1985. -184 с.
3. Зоз Н.Н., Серебряний А.М., Котенков П.В. Ингибирование роста опухолей растений N-нитрозо-N-ментил мочевиной // Доклады АН СССР, -1977. -233. -№1. –С.242-244.
4. Серебряный А.М., Зоз Н.Н., Семенова Н.А., Морозова И.С., Кошенков П.В., Бабаев М.М. Противоопухолевая активность производных фосфорной кислоты // Известия АН СССР, Сер.биол. -1979. -№4. – С.610-611.
5. Зінченко В.А. Закономірності і механізми формування та подолання радіорезистентності клітин пухлини // Авт.докт.дисертації. –Київ: - 1999. -35 с.
6. Потопальський А.И. Амитозин – перспективный для диагностики, лечения и профилактики новообразований препарат широкого спектра действия // III съезд онкологов стран СНГ, Минск, 26 мая 2004. –С.415
7. Эмануэль Н.М. Кинетика экспериментальных опухолевых процессов. М.: «Наука», -1977. -409 с.
8. А.с. № 1050151 Т. Способ борьбы с корончатогалловыми опухолями винограда / Потопальський А.И., Ткачук З.Ю., Леманова Н.Б. - 22.06.83