

А. К. Марченко¹, Н. А. Попова^{1,3}, Е. И. Рябчикова^{2,3}

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН
пр. Акад. Лаврентьева, 8, Новосибирск, 630090, Россия

² Институт цитологии и генетики СО РАН
пр. Акад. Лаврентьева, 10, Новосибирск, 630090, Россия

³ Новосибирский государственный университет
ул. Пирогова, 2, Новосибирск, 630090, Россия

E-mail: lenryab@niboch.nsc.ru

ИЗУЧЕНИЕ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ АСЦИТНОЙ ФОРМЫ ГЕПАТОМЫ А-1*

Изучены морфофункциональные особенности асцитной формы ГА-1 в динамике развития опухоли у мышей линии А/Не с помощью комплекса методов, включая электронную микроскопию. Асцитическая жидкость содержала, помимо опухолевых клеток, макрофаги на разных стадиях развития, тучные клетки и клетки крови. Соотношение между разными типами клеток в асцитической жидкости варьировало в зависимости от периода роста опухоли. Выявлены особенности ультраструктуры клеток асцитной формы ГА-1, вероятно связанные с ее существованием в асцитической жидкости, а также особенности интернализации внеклеточного материала опухолевыми клетками.

Ключевые слова: мыши, гепатома, асцитная форма, ультраструктура.

Гепатома А была индуцирована ортоаминоазотолуолом в печени мышей линии А/Не в 1969 г. в Институте цитологии и генетики (ИЦиГ) СО РАН. Гепатома А-1 (ГА-1) является ее дериватом, полученным при пассировании в культуре, и поддерживается в асцитной форме [1]. Эта опухоль используется в качестве экспериментальной модели для изучения противоопухолевого действия препаратов *in vivo* [1; 2]. При внутримышечной и подкожной перевивке ГА-1 образуются солидные узлы в месте трансплантации, а при внутривенном введении опухолевых клеток – имплантируется в основном в печени, образуя множественные опухолевые узлы, приводящие к гибели животных [1]. Морфофункциональные характеристики ГА-1 в опубликованных работах не приводятся, нет данных о морфологиче-

ских особенностях клеток асцитной формы опухоли.

Опубликованы единичные работы, описывающие асцитную форму ряда опухолей у мышей и крыс на ультраструктурном уровне [3; 4], однако изучение динамики развития (так называемого «жизненного цикла») опухолей не проводилось, не описаны детали цитологического строения опухолевых клеток.

Цель исследования – изучить морфологические параметры асцитной формы ГА-1 и ультраструктуры ее клеток в динамике ее развития у мышей линии А/Не.

Материал и методы

Эксперименты проводили на мышках самцах линии А/Не с массой 21–35 г, полу-

* Работа выполнена при финансовой поддержке интеграционного проекта СО РАН № 15, Программ фундаментальных исследований РАН «Молекулярная и клеточная биология» и «Фундаментальные науки – медицине».

ченных из вивария ИЦиГ СО РАН. Животных содержали по 8–10 особей в клетке, на стандартной диете и при свободном доступе к воде. Все эксперименты проводили с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Асцитная форма ГА-1 поддерживалась в лаборатории регуляции экспрессии генов путем перевивки мышам асцитической жидкости каждые две недели. Для проведения данной работы опухолевые клетки отмывали от асцитической жидкости, суспендировали в физиологическом растворе и вводили мышам внутривентрально по 1×10^5 клеток в 0,2 мл. Через 7, 10, 12, 14, 21 сут. после прививки животных умерщвляли методом цервикальной дислокации. Шприцем отсасывали асцитическую жидкость, а в случае ее отсутствия шприцем вводили 1 мл стерильного физиологического раствора, получая смыв из перитонеальной полости. В полученных препаратах определяли концентрацию клеток с помощью подсчета в камере Горяева. Для светоптического исследования готовили мазки на предметных стеклах, которые окрашивали методом Май – Грюнвальда в соответствии с инструкцией производителя («Bio-Optica», Италия).

Клетки, содержащиеся в асцитической жидкости, осаждали центрифугированием в течение 10 мин при 1 000 об./мин, осадок фиксировали 4 % раствором параформальдегида. Часть клеток постфиксировали 1 % раствором осмиевой кислоты, обезвоживали и заливали в смесь эпон-аралдит для электронно-микроскопического анализа стандартным методом. Остальные клетки использовали для исследования методом проточной цитометрии.

Полутонкие и ультратонкие срезы готовили на ультрамикротоме («Райхерт-Янг», Австрия). Полутонкие срезы окрашивали 1 % раствором азура-2 на 1 % растворе буры. Мазки асцитической жидкости и полутонкие срезы клеток изучали в световом микроскопе Leica DM2500 («Leica», Германия), фотосъемку осуществляли с помощью цифровой камеры Leica DFC420C. На окрашенных препаратах под световым микроскопом проводили измерения размера клеток с помощью программы LAS 3.6.0. Ультратонкие срезы клеток асцитической жидкости исследовали в электронном мик-

роскопе Jem 1400 («Jeol», Япония), фотосъемку проводили цифровой камерой бокового ввода Veleta («SIS», Германия).

Размеры клеток ГА-1 определяли в асцитической жидкости с помощью проточного цитометра Cytomics FC 500 («Beckman Coulter», США) в соответствии с инструкцией производителя.

Статистический анализ полученных данных проводили с помощью программы Statistica 6.0 и пакета анализа Microsoft Excel.

Результаты исследования и обсуждение

Концентрация опухолевых клеток в асцитической жидкости. Жизненный цикл асцитных форм опухолей начинается с активного деления клеток и роста их количества, затем наступает замедление их роста и концентрация выходит на плато [5; 6]. Интраперитонеальная перевивка клеток ГА-1 приводит к появлению в перитонеальной полости мышей асцитической жидкости. В период с 5-х по 12-е сутки асцитическая жидкость была прозрачной, через 14 суток у некоторых мышей она приобретала красноватый оттенок, а через 21 сутки у всех мышей становилась красноватой, мутной и слизистой, что, по-видимому, обусловлено накоплением в ней, помимо опухолевых клеток, продуктов обмена, крови и клеточного детрита. Подсчет концентрации опухолевых клеток в асцитической жидкости выявил рост их количества в период с 5-х по 12-е сут. и последующее снижение их концентрации, возможно связанное с прекращением прироста клеток на фоне увеличения объема асцитической жидкости. Различия между 7 и 10, 7 и 12, 10 и 21, 12 и 21 сут. наблюдения были достоверны ($p < 0,01$).

Подобный характер роста асцитной формы ГА-1 аналогичен таковому у гепатомы Йошида и опухоли JB-1 [7; 8]. Очевидно, что дефицит питательных веществ, накопление продуктов метаболизма и снижение уровня кислорода являются главными факторами, ограничивающими рост асцитной формы опухолей. Кроме того, бесклеточная асцитическая жидкость содержит ингибитор митоза – кейлон, регулирующий пролиферативную активность клеток как нормальных тканей, так и опухолей [5; 6].

Анализ клеток асцитической жидкости методом проточной цитометрии. Данные прямого светорассеяния свидетельствовали о гетерогенности клеток асцитической жидкости, полученной из перитонеальной полости мышей через 5, 7, 10, 12, 14 и 21 сут. после перевивки ГА-1 (рис. 1). Так, через 5 сут. на гистограмме отмечался один пик, указывающий на преобладание клеток наименьшего размера. Сопоставление графиков разных временных точек демонстрирует, что клетки такого размера присутствуют в асцитической жидкости на протяжении всего эксперимента (см. рис. 1). Через 7–10 сут. наблюдалось небольшое расщепление пика: у мышей в асцитической жидкости увеличивалось количество более крупных клеток (см. рис. 1, б). Через 12–21 сут. у мышей появлялись два выраженных пика, указывающих на наличие в асцитической жидкости двух групп клеток, значительно отличающиеся по размерам: мелкие и крупные

(см. рис. 1, в, г). Таким образом, как мелкие, так и крупные клетки присутствовали в асцитической жидкости мышей на протяжении всего эксперимента, менялось только их соотношение.

Светооптическое исследование дополнялось данными проточной цитометрии. Размеры крупных клеток в мазках варьировали от 22 до 32 мкм, на полутонких срезах – от 12 до 20 мкм. Мелкие клетки в мазках имели размеры от 15 до 20 мкм, на полутонких срезах – 7–10 мкм.

Морфологическая характеристика клеток асцитной ГА-1. Эти формы гепатом имеют различный характер пространственной организации в перитонеальной полости. Гепатомы Йошида, Зайделя и AS-30D у крыс формируют островки, в которых клетки сохраняют признаки органной дифференцировки, на билиарном полюсе гепатоцитов наблюдаются замыкающие комплексы, клетки формируют подобие

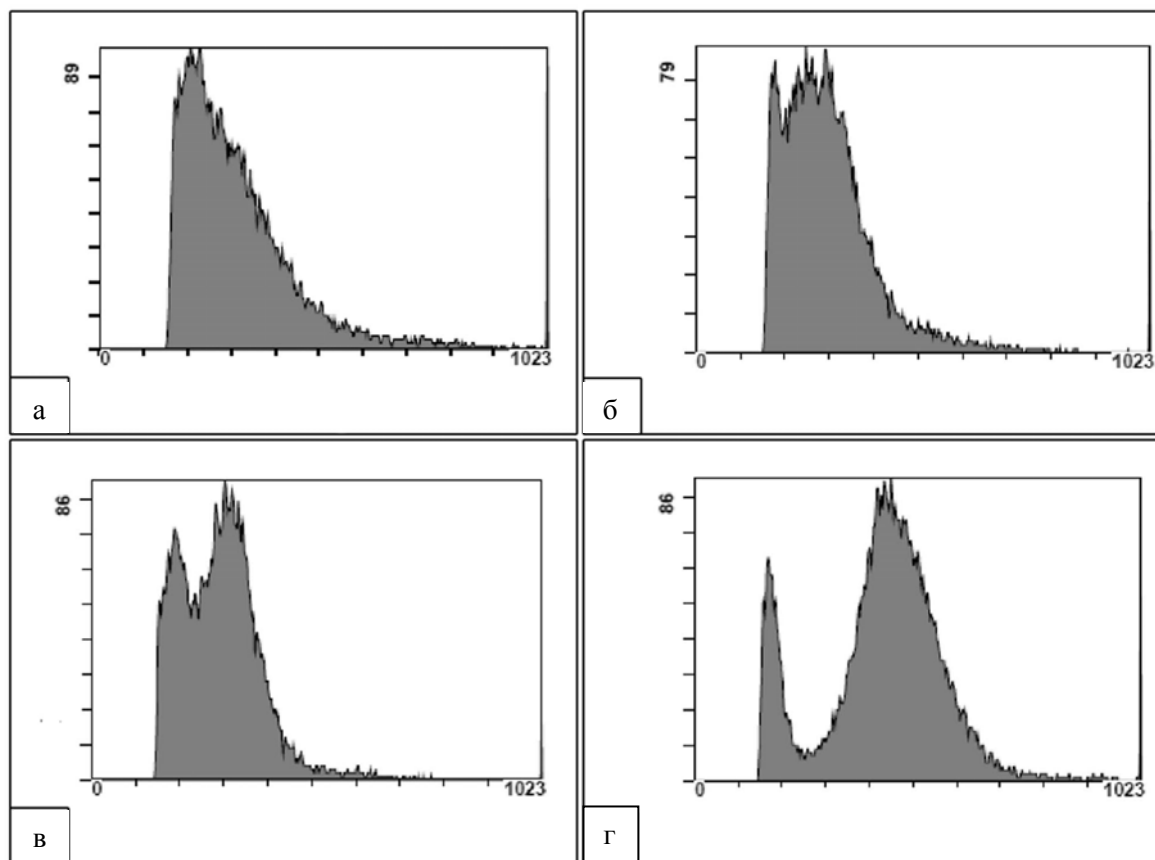


Рис. 1. Гистограммы распределения клеток асцитической жидкости по размеру: а – 5-е сутки, б – 10-е, в – 14-е, г – 21-е сутки после перевивки опухолевых клеток. По горизонтали приведены данные прямого светорассеяния, отражающие размеры клеток, по вертикали – количество «событий», отражающих количество клеток

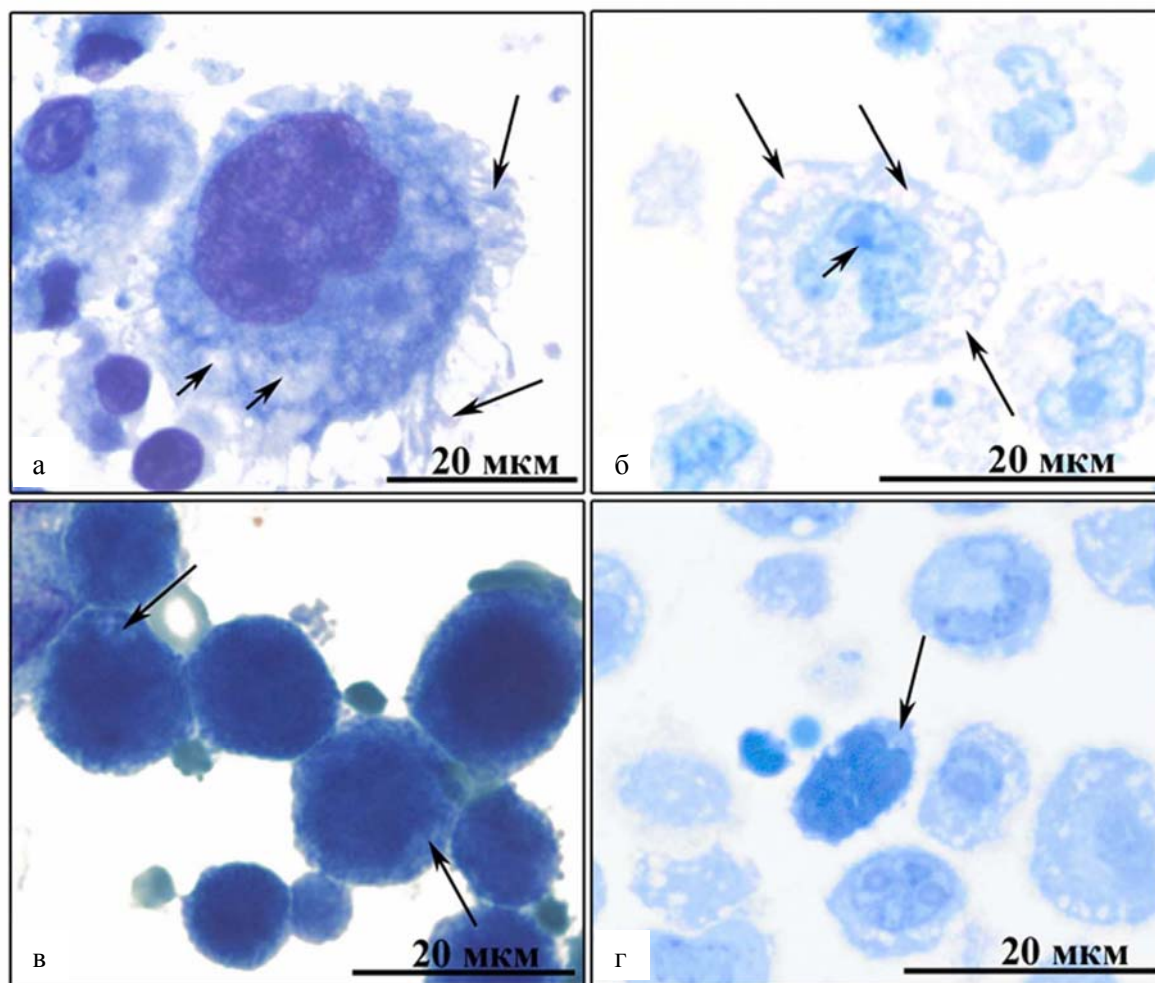


Рис. 2. Клетки асцитной формы ГА-1. Мыши линии А/Не: *а* – мазок, 10-е сутки после перевивки (длинными стрелками показаны отростки цитоплазмы, короткими – вакуоли); *б* – полутонкий срез, 5-е сутки после перевивки (длинными стрелками показаны вакуоли, короткой – ядрышко); *в* – мазок, 14-е сутки после перевивки (стрелками показан узкий ободок цитоплазмы); *г* – полутонкий срез, 12-е сутки после перевивки (стрелкой показан узкий ободок цитоплазмы); *а, в* – окраска методом Май – Грюнвальд; *б, г* – окраска азуром-2

желчных капилляров [9; 10]. Клетки ГА-1 располагаются в перитонеальной полости независимо друг от друга, поодиночке.

В мазках и на полутонких срезах клеток асцитической жидкости всех животных, помимо клеток ГА-1, присутствовали лейкоциты и немногочисленные эритроциты, являлись макрофаги, тучные клетки, клеточный детрит. Следует отметить, что на мазках клетки асцитической жидкости выглядели мутными, с плохо различимой структурой, что, по-видимому, связано с адсорбцией на клетках присутствующей в асцитической жидкости слизи.

Светооптическое изучение полутонких срезов и мазков асцитной формы ГА-1 показало, что крупные опухолевые клетки (рис. 2,

а, б) присутствовали в препаратах на протяжении всего эксперимента. В мазках асцитической жидкости на предметном стекле, равно как и на полутонких срезах, они были распределены равномерно и составляли основную часть всех клеток. Клетки округлой или неправильной формы вне зависимости от размеров имели идентичную морфологию. На мазках и на полутонких срезах на поверхности клеток наблюдались небольшие отростки цитоплазмы (см. рис. 2, *а*). Характерной особенностью опухолевых клеток являлась бледно окрашенная вакуолизированная цитоплазма, придающая клеткам вспененный вид. Вакуоли в основном располагались по периферии и имели размеры до 1,5 мкм, в отдельных клетках дос-

тигали 3 мкм. На полутонких срезах было видно, что в некоторых клетках цитоплазма вокруг ядра окрашена более интенсивно и не содержит вакуолей, а край клетки имел вид ажурной каемки.

Крупные опухолевые клетки асцитической жидкости содержали одно, изредка несколько ядер. Ядра располагались эксцентрично (см. рис. 2, а, б) и отличались выраженным разнообразием формы (округлые, вытянутые, бобовидные, фрагментированные, изрезанные, звездчатые), занимали до половины всей площади клетки. На полутонких срезах обнаружено, что гетерохроматин локализовался в основном по периферии ядра. Крупные многочисленные ядрышки разбросаны по всему ядру, количество их колеблется от 1 до 3 (см. рис. 2, б).

Мелкие опухолевые клетки выявлялись с 10-х сут. и преимущественно локализовались на предметном стекле в конце мазка. Эти клетки были округлые, с небольшим количеством цитоплазмы, в которой с трудом прослеживались контуры и структура интенсивно прокрашенного в синий цвет ядра, которое занимало основную часть клетки. Ядро расположено центрально, ядрышки неразличимы (рис. 2, в). На полутонких срезах мелкие клетки имеют узкий ободок цитоплазмы серо-голубой окраски, ядро окрашено интенсивно, равномерно, выделялась более темная каемка на его периферии (рис. 2, г).

Морфологическая гетерогенность клеток отмечена также в асцитных формах лимфоидной лейкемии Р-388, гепатом AS-30D и Зайделя [10–12]. Клетки гепатомы Зайделя были разделены путем дифференциального центрифугирования в градиент Percoll на «тяжелые» (активно пролиферирующие) и «легкие» – пассивные или «спящие» клетки.

На светооптическом уровне в препаратах асцитической жидкости на протяжении всего эксперимента наблюдались фигуры митоза, полуразрушенные клетки и картины апоптоза. В состоянии митоза в клетках не выявлялись вакуоли. Количество клеток с признаками апоптоза заметно возрастало к 21-м суткам. Подсчет клеток на полутонких срезах показал, что через 5 сут. после перевивки на 100 клеток в асцитической жидкости приходилось 1–2 клетки, находящиеся в состоянии апоптоза, через 12–14 сут. – 3, через 21 сут. – 20 клеток.

Характерной особенностью ультраструктуры клеток асцитной формы ГА-1 являлись признаки активного макропиноцитоза, особенно наглядные на срезах периферической части клеток. На их поверхности наблюдались многочисленные тонкие складки цитоплазмы (рис. 3, а). Наличие большого числа гладкомембранных макропиносом (макропиноцитозных вакуолей) на периферии клетки (рис. 3, 4, а) указывает на активный захват жидкости и внеклеточного материала опухолевыми клетками. Именно макропиносомы обеспечивают «вспененность» цитоплазмы опухолевых клеток, видимую в световом микроскопе. Помимо макропиносом в клетках содержались фагосомы с рыхлым хлопьевидным содержимым, фрагментами мембран, клеточным детритом, продуктами деградации клеточных структур (рис. 4, б). Размеры макропиносом и фагосом достигали 3 мкм. По мере развития ГА-1 в клетках происходило увеличение количества и размеров фагосом, что указывает на активные процессы фагоцитоза. На 14–21 сут. картины фагоцитоза в опухолевых клетках встречались чаще, чем в период до 10 сут. Важно, что клетки ГА-1 фагоцитируют главным образом «останки» разрушенных опухолевых клеток, прежде всего фрагменты ядер и митохондрии. Через 21 сут. большинство опухолевых клеток имело большое количество длинных тонких отростков, что отражает активные процессы макропиноцитоза. Цитоплазматические выросты разной длины и толщины, вакуолизация цитоплазмы отмечены ранее в клетках асцитных форм опухолей Йошида, JB-1, Эрлиха и лейкемии Р388, однако авторы не идентифицировали эти структуры как признаки макропиноцитоза [4; 7; 13].

Другой особенностью клеток ГА-1 является практически полное отсутствие морфологических признаков клатрин-зависимого (рецептор-зависимого) эндоцитоза. На срезах обнаруживались единичные опущенные ямки и везикулы (1–2 на 100 срезов клеток). Исключительно редко выявлялись ранние эндосомы и поздние мультивезикулярные тельца, крайне редко наблюдались аутофагосомы и лизосомальные структуры. Морфологические признаки других типов микроэндоцитоза в клетках ГА-1 также не обнаруживались, на срезах клеток не регистрировались кавеолы и трубочки, образованные плазматической мембраной.

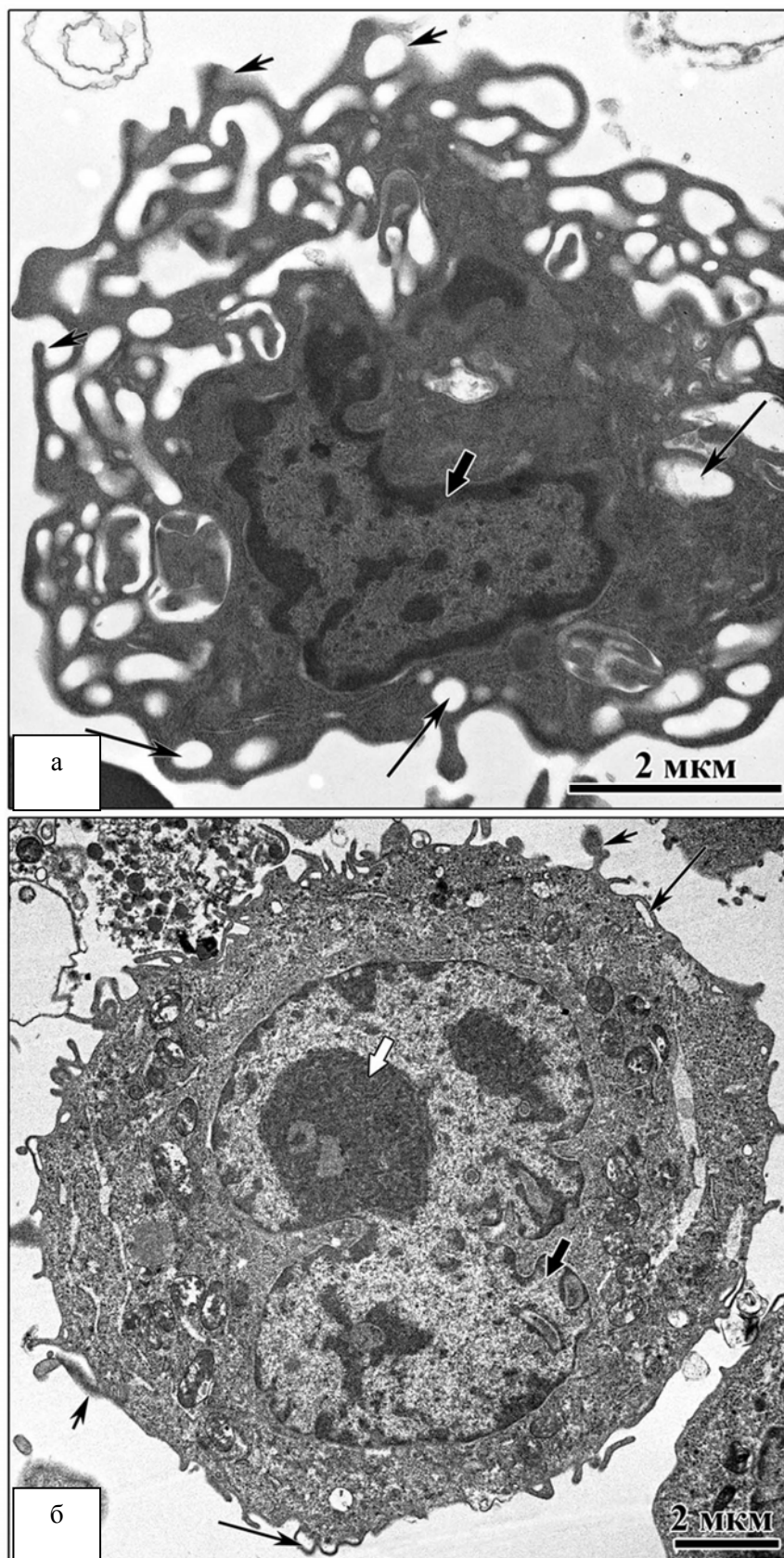


Рис. 3. Клетки асцитной формы ГА-1. Мыши линии А/Не. Препарат на 12-е сутки после переривки: *а* – срез через периферическую часть клетки; *б*– срез через центральную зону клетки. Длинными стрелками показаны макропиносомы, короткими – складки цитоплазмы, толстой стрелкой – ядро, белой – ядрышко. Просвечивающая электронная микроскопия. Ультратонкие срезы

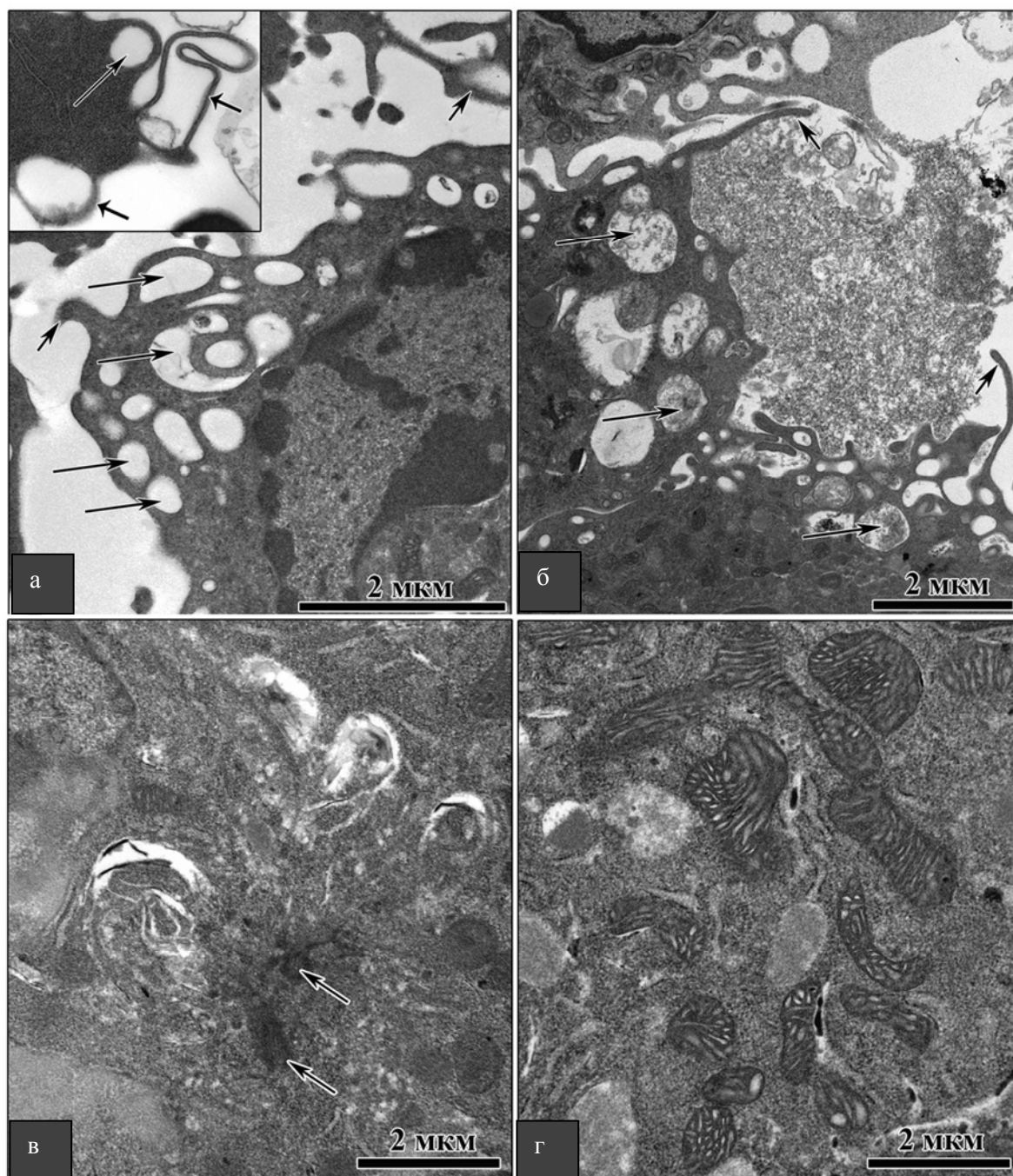


Рис. 4. Участки цитоплазмы клеток асцитной формы ГА-1. Мыши линии А/Не. Препарат на 12-е сутки после перевивки: а – макропиноцитоз. Длинными стрелками показаны макропиносомы, короткими – складки цитоплазмы. На врезке приведен фрагмент цитоплазмы; б – фагоцитоз клеточного детрита. Длинными стрелками показаны фагосомы, короткими – выросты цитоплазмы; в – зона комплекса Гольджи. Стрелками показаны центриоли; з – митохондрии. Просвечивающая электронная микроскопия. Ультратонкие срезы

На электронограммах опухолевые клетки были преимущественно округлой формы (рис. 3, б), диаметром 6–18 мкм. Цитоплазма клеток средней электронной плотности, зернистая, с большим количеством полисом

и свободных рибосом. Комплекс Гольджи развит крайне слабо (рис. 4, в), на срезах большинства клеток он не обнаруживался. Было проанализировано более 1 000 срезов опухолевых клеток через зону комплекса

Гольджи и лишь в единичных клетках выявлены плохо различимые мелкие цистерны и пузырьки комплекса Гольджи. Следует отметить малое число мелких опущенных везикул в зоне аппарата Гольджи. Слабое развитие аппарата Гольджи кажется необычным для активно делящихся и растущих опухолевых клеток, поскольку эта структура играет ведущую роль в процессах формирования клеточных мембран.

В некоторых публикациях, посвященных исследованию асцитных опухолей, сообщается о том, что комплекс Гольджи может иметь разную степень развития, однако авторы не анализируют этот феномен, ограничиваясь констатацией факта. В клетках асцитной карциномы Эрлиха комплекс Гольджи развит слабо [3], а в клетках опухоли JB-1 на ранних стадиях жизненного цикла он практически не выявлялся, тогда как через неделю после перевивки он имел нормальное строение [7].

Гранулярный эндоплазматический ретикулум в клетках ГА-1 представлен вытянутыми нерасширенными цистернами с содержанием небольшой электронной плотности. Клетки содержали большое количество митохондрий округлой формы с матриксом средней электронной плотности и хорошо развитыми кристами (рис. 4, з). На срезах клеток встречались капли жира, редкие вирусоподобные частицы. Ядра опухолевых клеток имели различные размеры и занимали значительную часть клетки (см. рис. 3). Перинуклеарное пространство не расширено. Наблюдались отложения гетерохроматина в виде тонкой полоски или небольших глыбок по периферии ядра, а также мелкие сгущения гетерохроматина размером до 2 мкм, разбросанные в нуклеоплазме. Ядра содержали 1–3 активных ядрышка с хорошо развитыми гранулярным и фибриллярным компонентом (см. рис. 3, а). Аналогичную структуру ядра и ядрышек имеют клетки асцитных форм гепатомы Йошида, карциномы Эрлиха и лейкемии Р-388 [3; 4; 13; 14].

Ультраструктура опухолевых клеток заметно не изменялась в течение жизненного цикла ГА-1. В состоянии митоза цитоплазма клеток содержала большое количество митохондрий и хорошо развитые цистерны ЭПР, макропиносомы отсутствовали, на поверхности клеток сохранялись короткие отростки цитоплазмы.

Динамика изменений клеточного состава асцитной ГА-1. Препараты асцитической жидкости мышей на ультратонких срезах, помимо опухолевых клеток, содержали лейкоциты и эритроциты, макрофаги и тучные клетки. У отдельных животных через 12, 14, 21 сут. отмечались пучки фибриновых волокон. Через 5–7 сут. после интраперитонеальной перевивки клеток ГА-1 мышам линии А/Не основную часть клеток асцитической жидкости составляли лимфоциты и макрофаги, содержание опухолевых клеток невелико. На срезах прослеживались последовательные стадии дифференцировки макрофагов от моноцитов до зрелых клеток, содержащих многочисленные лизосомы. Через 5 сут., кроме лимфоцитов и макрофагов, в асцитической жидкости отмечались единичные нейтрофилы, эозинофилы и тучные клетки, ультраструктура которых не отличалась от описанной в литературе.

В период с 10-х по 21-е сут. развития асцитной формы ГА-1 опухолевые клетки составляли основную часть клеток асцитической жидкости. Установлено, что на протяжении всего эксперимента в асцитической жидкости не наблюдалось заметного увеличения количества нейтрофилов, что указывает на отсутствие острой воспалительной реакции. Тучные клетки, эозинофилы и эритроциты присутствовали в препаратах в течение всего эксперимента. Следует отметить, что через 21 сут. после перевивки в асцитической жидкости существенно возросло количество тучных клеток по сравнению с другими временными точками, в то время как количество макрофагов и лимфоцитов значительно снижалось. На протяжении эксперимента не обнаружено контакта макрофагов с клетками ГА-1, что свидетельствует об отсутствии фагоцитарной активности этих клеток по отношению к опухолевым клеткам.

Заключение

Опубликованные описания асцитных форм опухолей фрагментарны и не дают представления об изменениях клеточного состава асцитической жидкости, в них отсутствуют детали цитологического строения и анализ функционального значения структурных изменений опухолевых клеток. Кроме того, все исследования были выполнены более 30 лет назад [4; 13].

Мы впервые изучили морфофункциональные особенности асцитной формы ГА-1 с помощью комплекса методов, включая электронную микроскопию. Исследование показало, что асцитическая жидкость содержит не только опухолевые клетки, но и клетки крови, макрофаги и тучные клетки, количество которых менялось в динамике жизненного цикла ГА-1. В доступной литературе не опубликовано работ, позволяющих проанализировать выявленное отсутствие признаков фагоцитарной активности макрофагов по отношению к опухолевым клеткам и накопления нейтрофилов в асцитической жидкости, а также рост числа тучных клеток без явных изменений их структуры в конце жизненного цикла опухоли.

Гепатоциты млекопитающих содержат хорошо развитые протяженные цистерны шероховатого ЭПР, многочисленные митохондрии, развитый гладкий ЭПР, активный комплекс Гольджи, лизосомы, пероксисомы, капли жира и гранулы гликогена. Высокая степень развития цитоплазматических структур обеспечивает выполнение гепатоцитами их синтетических и детоксикационных функций. Ультраструктура клеток асцитной формы ГА-1 не имеет признаков дифференцировки, свойственных гепатоцитам, в отличие от островковой формы гепатом [9; 10]. Структура клеток асцитной формы ГА-1 более «бедная», их цитоплазма в основном заполнена свободными рибосомами и полисомами, наиболее яркой особенностью этих клеток является крайне слабое развитие комплекса Гольджи и эндосомально-лизосомальных структур. Напротив, в отличие от гепатоцитов, в клетках ГА-1 присутствуют структуры, указывающие на протекание активных процессов макропиноцитоза. Клетки ГА-1 располагаются в асцитической жидкости, из которой и получают все пластические вещества для своей жизнедеятельности и воспроизведения. Проведенное исследование позволяет заключить, что макропиноцитоз является основным путем интернализации веществ клетками этой опухоли и вместе с фагоцитозом обеспечивает поступление в клетки необходимых «питательных» компонентов. Клатрин-зависимый тип эндоцитоза в клетках ГА-1 подавлен, его признаки на срезах встречаются исключительно редко. Между тем этот тип эндоцитоза вовлечен в презентацию антигенов и необходим для развития

эффекторных реакций иммунной системы [15]. Подавление данного типа эндоцитоза может служить одним из механизмов «ухода» опухоли от надзора иммунной системы. Исследования механизмов интернализации веществ опухолевыми клетками не только асцитных, но и солидных форм опухолей не опубликованы, что не позволяет проанализировать полученные данные.

Проведенное исследование асцитной формы ГА-1 позволило выявить особенности ультраструктуры ее клеток, вероятно связанные с ее существованием в асцитической жидкости и отражающие адаптивные изменения, обусловленные опухолевой природой клеток. Выявленные особенности интернализации веществ опухолевыми клетками, несомненно, нуждаются в дальнейшем исследовании и важны при разработке противоопухолевых препаратов направленного действия.

Список литературы

1. Каледин В. И., Поляченко В. М. Новый перевиваемый штамм гепатомы мышей (гепатома А) // Лабораторные животные в медицинских исследованиях: Тез. докл. конф. М., 1974. С. 50–52.
2. Шкурупий В. А., Никитенко Е. В., Каледин В. И. Исследование противоопухолевой активности и гепатотоксичности липосомальной формы платины // Бюл. СО РАМН. 2002. № 3. С. 74–79.
3. Bernhard W. Electron Microscopy of Tumor Cells and Tumor Viruses // Cancer Res. 1958. Vol. 18. P. 491–509.
4. Hoshino M. Submicroscopic Characteristics of Four Strains of Yoshida Ascites Hepatoma of Rats: a Comparative Study // Cancer Res. 1963. Vol. 23. P. 209–216.
5. Peel S., Fletcher P. A. Changes Occurring During the Growth of Ehrlich Ascites Cells *in Vivo* // Europ. J. Cancer. 1969. Vol. 5. P. 581–589.
6. Hofer K. G., Hofer M. Kinetics of Proliferation, Migration and Death of L 1 210 Ascites Cells // Cancer Res. 1971. Vol. 31. P. 402–408.
7. Chemnitz J., Skaaring P. Light and Electron Microscopy of the JB-1 Ascites Tumor at Different Stages of Growth // Z. Krebsforsch. 1974. Vol. 82. P. 111–131.
8. Tessitore L., Bonelli G., Cecchini G., Autelli R., Amenta J. S., Baccino F. M. Regula-

tion of Protein Turnover Versus Growth State // *Biochem. J.* 1988. Vol. 251. P. 483–490.

9. *Locker J., Goldblatt P. J., Leighton J.* Hematogenous Metastasis of Yoshida Ascites Hepatoma in the Chick Embryo Liver: Ultrastructural Changes in Tumor Cells // *Cancer Res.* 1969. Vol. 29. P. 1244–1253.

10. *Smith D. F., Walborg E. F., Chang J. P.* Establishment of a Transplantable Ascites Variant of a Rat Hepatoma Induced by 3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene // *Cancer Res.* 1970. Vol. 30. P. 2306–2309.

11. *Pande C., Joshi D. S., Sundaram K., Das M. R.* Isolation and Characterization of the Two Subpopulations of Cells with Different Lethalities from Zajdela Ascitic Hepatoma // *Cancer Res.* 1986. Vol. 46. P. 1673–1678.

12. *Radel S., Fredericks W., Mayhew E., Baker R.* P-glycoprotein Expression and Mod-

ulation of Cell-membrane Morphology in Adriamycin-resistant P388 Leukemia Cells // *Cancer Chemother. Pharmacol.* 1990. Vol. 25. P. 241–246.

13. *Bairati A.* Submicroscopic Structure of Yoshida Ascites Hepatoma // *Cancer Res.* 1961. Vol. 21. P. 989–1012.

14. *Karasaki S.* An Electron Microscope Study of Intranuclear Canaliculi in Novikoff Hepatoma Cells // *Cancer Res.* 1970. Vol. 30. P. 1736–1742.

15. *McCormick P. J., Martina J. A., Bonifacino J. S.* Involvement of Clathrin and AP-2 in the trafficking of MHC Class II Molecules to Antigenprocessing Compartments // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. Vol. 102. P. 7910–7915.

Материал поступил в редколлегию 11.05.2011

A. K. Marchenko, N. A. Popova, E. I. Ryabchikova

EXAMINATION OF MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS IN ASCITES HEPATOMA A-1

Morphological characteristics of ascites hepatoma A-1 during the tumor development have been examined using a set of methods including electron microscopy in A/He mice. Ascitic fluid besides tumor cells contained macrophages at different stages of development, mast cells and blood cells. The proportion between different types of ascitic cells varied depending on the period of tumor growth. The cells of ascites hepatoma A-1 showed ultrastructural features probably related to their existence in ascitic fluid as well as features of molecules internalization by tumor cell.

Keywords: mice, hepatoma, ascites, ultrastructure.