

УДК 616.155.37:616.35

**А.С. Агабян, А.П. Макарян, О.Я. Давтян,
А.М. Агавелян, В.Э. Акопян**

**Экспрессия ДНК опухоли человека в чужеродном организме
и характеристика биохимического и иммунного статуса
животных с индуцированным опухолевым ростом**

(Представлено академиком Ю.Т. Алексаняном 26/I 2000)

Известно, что развитие опухолевой прогрессии в организме представляет собой многоэтапный процесс, затрагивающий многочисленные стороны жизнедеятельности организма и вызывающий разнообразные изменения в биохимическом, иммунологическом, генетическом и бактериологическом статусе организма.

Основным постулатом теории онкогенеза является положение о клеточном онкогенезе как причине опухолевой трансформации клетки [1,2].

Ранее нами была показана возможность индуцирования опухолевого роста в слизистой оболочке толстой кишки лабораторных животных (белые крысы) при введении последним ДНК, выделенной из аденокарциномы толстой кишки человека [3,4]. Полученные в этих экспериментах результаты позволили констатировать ряд положений:

1. возможность экспрессии ДНК в чужеродном организме;
2. выраженное тканеспецифичное свойство опухолевой ДНК;
3. возможность создания экспериментальной моноцентричной модели опухоли толстой кишки человека у животных.

В настоящей работе сделана попытка изучить возможные механизмы экспрессии опухолевой ДНК, а также охарактеризовать биохимический и иммунный статус животных с индуцированным опухолевым ростом.

Эксперименты проводили на 130 белых беспородных лабораторных крысах массой 160-200гр. Активность ферментов (ЩФ, КФК, ГГТП, ЛДГ) количественный баланс сывороточных белков: (общий белок, альбумин) определяли в биохимическом анализаторе FR-901, количественную характеристику сывороточных иммуноглобулинов определяли по методу Манчини.

ДНК из опухоли толстой кишки человека и слизистой оболочки толстой кишки (СОТК) крыс выделяли по известному методу [3]. Молекулярную гибридизацию ДНК осуществляли по Саузерну [5]. В экспериментах по индуцированию неопластических изменений в СОТК животных при помощи опухолевой ДНК была установлена выраженная тканевая специфичность опухолевой ДНК - индукция неопластических изменений только в гомологичном органе у животных. В настоящее время имеются единичные сообщения о тканевой специфичности онкогенов. Так, установлена выраженная тканевая специфичность онкогенов на примере ретровирусов. Определенную тканевую специфичность проявляют также клеточные онкогены [6-8]. В наших экспериментах опухолевая ДНК, введенная животным внутрибрюшинно (в/бр), могла попасть в клетки различных органов брюшной полости, однако свою трансформирующую активность проявляет только в гистологически гомологичных структурах.



Гибридизация P^{ν} *Alu*-ДНК с фрагментами ДНК
из опухоли толстой кишки человека
и крысы:

- 1 - ДНК из толстой кишки здоровой крысы;
 - 2 - ДНК из опухоли толстой кишки подопытной крысы;
 - 3 - ДНК из опухоли толстой кишки человека.
- Пунктирами показаны *Alu*-повторы.

Для ответа на вопрос, каким путем опухолевая ДНК человека, введенная животным, индуцирует у последних опухолевый рост, нами был осуществлен гибридизационный анализ ДНК из трансформированных клеток СОТК крыс. В качестве зонда гибридизации использовали *Alu*-фрагмент ДНК (*Alu*-повторы - последовательности человеческой ДНК вследствие высокой частоты повторяемости являются удобным зондом для идентификации фрагментов генома человека в трансформированных клетках).

Результат гибридизации фрагментов ДНК крысы и человека с меченными в системе НИК-трансляции *Alu*-повторами человека представлен на рисунке, на котором отчетливо видно, что ДНК, выделенная из СОТК крысы с индуцированными неопластическими изменениями в отличие от ДНК из СОТК интактных крыс содержит в своем составе нуклеотидные последовательности, гибридизующиеся с *Alu*-последовательностями человека. Полученный результат однозначно указывает на интеграцию фрагментов опухолевой ДНК человека в геном клеток крысы с последующей экспрессией. Способность генов активно работать после переноса между клетками животных, даже принадлежащих к разным классам, показана также в исследованиях по гибридизации соматических клеток [9]. Гены, являющиеся чужеродными для того или иного вида животных, продолжают нормально работать, как показано в случае с генами интерферона и соматостатина [10].

Следующая серия экспериментов была посвящена изучению биохимического и иммунного статуса животных с индуцированным опухолевым ростом в толстой кишке. Проведен анализ активности таких ферментов, как щелочная фосфатаза (ЩФ), креатинфосфокиназа (КФК), гаммаглутамилтранспептидаза (ГГТП) и лактатдегидрогеназа (ЛДГ). Определяли также количественное содержание общего белка и альбумина у подопытных животных. Результаты этих исследований суммированы в табл. 1.

Таблица 1

**Активность ферментов у животных с индуцированным
опухолевым ростом в толстой кишке**

Группа	Активность ферментов Е/л (x10)			
	ЩФ	КФК	ГГТП	ЛДГ
Интактные животные (контроль), n=40	22,5±1,2	23,7±2,21	2,4±0,91	21,2±0,91
Животные с индуцированным опу- холевым ростом, n=40	37,3±1,02 (1,6 раз)	30,1±1,12 (1,2 раза)	5,6±1,44 (2,3 раза)	35,1±0,98 (1,6 раза)

Как видно из таблицы, активность изученных ферментов в опытной группе животных значительно повышена, что находится в полном соответствии с данными других авторов относительно активности ферментов при опухолевом росте. В то же время количественный баланс сывороточных белков, общего белка и альбумина выражено снижался в среднем в 1,3-1,5 раза, что также характерно при опухолевом росте [11].

Анализ результатов по изучению состояния гуморального иммунитета животных с индуцированным опухолевым ростом выявил существенное понижение показателей иммунитета (табл. 2).

Таблица 2

**Иммунологические показатели у животных с индуцированным
опухолевым ростом в толстой кишке**

Группа	Концентрация сывороточных иммуноглобулинов, мг/мл		
	IgA	IgM	IgG
Интактные животные, n=40	1,6±0,23	0,61±0,31	6,4±1,12
Животные с ин- дуцированным опухолевым ростом, n=30	1,24±0,91	0,42±0,19	3,65±0,84

Данные таблицы однозначно указывают на снижение иммунного ответа и понижение неспецифической резистентности организма, характерные для опухолевого роста в организме.

Таким образом, полученные нами данные позволили уточнить механизм индукции опухолевого роста в толстой кишке крыс после в/бр введения опухолевой ДНК.

Выявленные сдвиги в биохимическом и иммунном статусе экспериментальных животных,

характерные для опухолевого роста в организме, вкупе с результатами морфологических исследований, описанными в другой нашей работе [4], а также обнаружение фрагментов человеческой ДНК в геноме подопытной крысы позволяют охарактеризовать индуцированные неопластические изменения в СОТК.

И наконец, индуцирование опухолевого роста вместе с выраженной тканевой специфичностью позволили создать новую экспериментальную, моноцентричную модель опухоли толстой кишки человека у животных.

Ереванский государственный медицинский университет
НИИ проктологии МЗ РА
Институт молекулярной биологии НАН РА

Литература

1. Альтштейн А.Д. - Журн. Всесоюз. Хим. о-ва им.Д.И.Менделеева. 1973. Т. 18. С. 630-638.
2. Clain M.J., Siamon D.J., Lipsick J.S. - Ann.Intern.Med. 1984. V. 101. P. 223-233.
3. Агабалян А.С., Давтян О.Я., Багдасарян А.А. и др. - ДАН АрмССР. 1987. Т. 84. № 4. С. 179-183.
4. Агабалян А.С., Давтян О.Я., Багдасарян А.А. и др. - Журн. клинич. и эксп. медицины. 1989. № 4. С. 372-376.
5. Southern E.M. - J.Mol.Biol. 1975. V. 98. P. 53-517.
6. Сейц И.Ф., Федоров С.Н., Серова И.М. - Вопр. онкологии. 1986. № 8. С. 52-56.
7. Серова О.М., Шпатарь Т.В., Федоров С.М. - Вопр. онкологии. 1986. Т. 8. С. 89-92.
8. Alitato K. - Med.Biol. 1984. V. 1962. P. 304-317.
9. Ephrussi B., Weies M.C. - Proc.Nat.Acad.Sci USA. 1965. V. 503. P. 1040-1042.
10. Esteban M., Paez E. - Viruses, oncogenes and cancer. Basel. 1975. V. 98. P. 503-517.
11. Stefelin D., Varmus H., Bishop J. - Brit.J.Cancer. 1981.V. 6. P. 856-862.

Ա.Ս.Աղաբալյան, Ա.Պ.Մակարյան, Օ.Յ.Դավթյան,
Ա.Մ.Աղավեյան, Վ.Է. Հակոբյան

**Մարդու ուռուցքի ԴՆԹ-ի էքսպրեսիան օտար օրգանիզմում և
կենդանիների բիոքիմիական և իմուն կարգավիճակի
բնութագիրը ուռուցքային աճի դրդմամբ**

Ներկայիս աշխատանքում ուսումնասիրվում է առնետի օրգանիզմում ԴՆԹ-ի միջոցով ուռուցքային աճի դրդման հնարավորությունը, որը անջատված է մարդու ուռուցքից: Հաստատված է ուռուցքային ԴՆԹ-ի արտահայտված հյուսվածքային յուրահատկությունը: Որոշված է, որ մարդու ուռուցքային ԴՆԹ-ի ինֆորմացիան կենդանու օրգանիզմում իրականացվում է տիրոջ գենոմ ուռուցքային ԴՆԹ-ի հյուսվածքների ներդրումից հետո: Ուսումնասիրված է այն կենդանիների բիոքիմիական և իմուն բնութագիրը, որոնց մոտ դրդված էր ուռուցքային աճը: Ցույց է տրված փորձարարական կենդանիների բիոքիմիական և իմուն կարգավիճակների համապատասխանությունը կենդանիների ուռուցքային ախտահարման լաբորատոր բնութագրի հետ: Ցույց է տրված ներկայացված մեթոդի կիրառման հնարավորությունը մարդու հաստ աղու փորձարարական մոդելի համար: