

7. Чернух А. М., Александров П. Н., Алексеев О. В. В кн.: Микроциркуляция. М., 1975, с. 455.
8. Blatter W., Straub P., Jeannert C. et al. Amer. J. Physiol., 1979, 236, 3, 447.
9. Cohen S., Yoshida T. В кн: Механизмы иммунопатологии. М., с. 62.
10. Remold N., David J. In: Mechanisms of cell-mediated immunity. Ed. R. T. McCluskey a. S. Gohen., John Willey, New York, 1974, 25.
11. Rokin R. J. Immunol., 1976, 116, 816.
12. Ward P., Remold H., David J. Cell. Immunol., 1970, 1, 162.

УДК 616.348—006:599.323

О. Я. ДАВТЯН, А. А. БАГДАСАРЯН, Э. В. МАНУКЯН, Л. А. РУХКЯН,
Р. А. ЗАХАРЯН, А. А. АГАБАЛЯН

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ТОЛСТОЙ КИШКИ КРЫС, ИНДУЦИРОВАННЫЕ ОПУХОЛЕВОЙ ДНК

Изучалась биологическая активность опухолевой ДНК, выделенной из аденокарциномы толстой кишки человека. Показано, что внутрибрюшинное введение 100 мкг ДНК из опухоли человека приводит к развитию неопластических изменений в толстой кишке экспериментальных животных. Изучена динамика развития морфологических изменений от легкой степени дисплазии до возникновения рака.

Благодаря достижениям молекулярной онкологии в настоящее время разработана теория онкогенеза, согласно которой важнейшим звеном злокачественной трансформации клетки является клеточный онкоген [1, 2, 8]. Функции, выполняемые онкогенами в нормальных клетках, изучены пока недостаточно, однако имеются данные об участии их в регуляции процессов роста, пролиферации, дифференцировки клеток [6, 7]. Различные активирующие воздействия (химические и физические канцерогены, вирусы и другие), генетическая перестройка приводят к превращению нормального клеточного гена в онкоген, способный трансформировать клетку из нормальной в опухолевую. Практическое подтверждение трансформационной активности онкогенов получено в экспериментах *in vitro* при внесении опухолевой ДНК или изолированных онкогенов в культуру клеток [3, 4, 5].

Нами изучалась биологическая активность ДНК, выделенной из опухоли человека, на основе морфологических изменений, возникающих в толстой кишке крыс после введения им опухолевой ДНК.

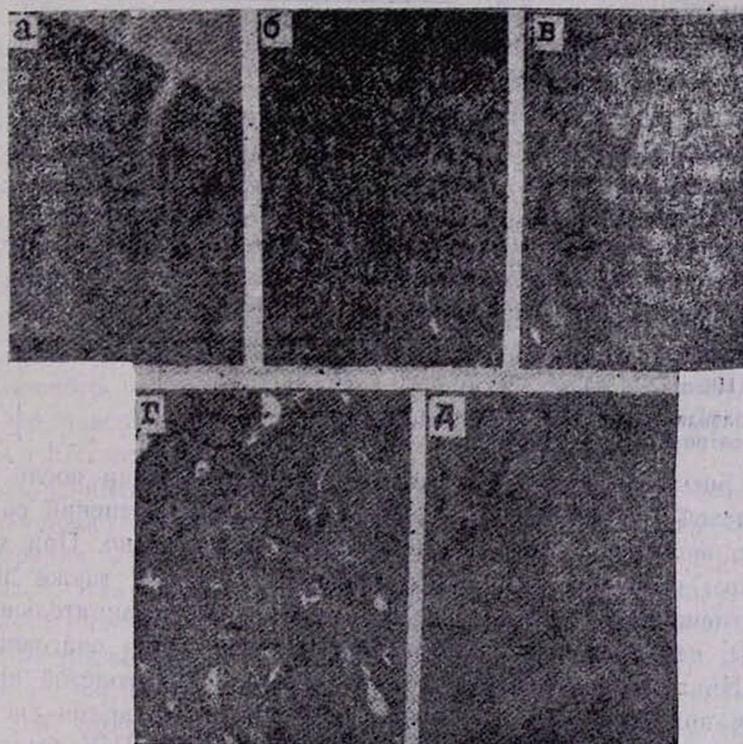
Материал и методы

В работе использовали 120 беспородных крыс массой 180—200 г. ДНК из опухоли толстой кишки, резецированной по поводу аденокарциномы, выделяли по методу Маггиг [9]. Очистку от примесей РНК проводили обработкой РНК-азой, гель-фильтрацией на колонках с сефарозой 4В. Идентификацию ДНК осуществляли с помощью электрофореза в 1% геле агарозы. Количественные и качественные характеристики полученных препаратов ДНК изучали спектрофотометрически на спектрофотометре СФ-46 (ЛОМО).

Препараты ДНК вводили животным внутрибрюшинно (в/бр), внутримышечно (в/м) и подкожно (п/к), однократно, в дозе

100 мкг/крыса. В разные сроки (от 4 до 12 недель) животных забивали и для гистологического исследования отбирали легкие, желудок, печень, тонкую и толстую кишки. Материал для гистологических исследований фиксировали в 10% нейтральном формалине и обрабатывали по общепринятой схеме. Серийные срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином. Объективизацию оценки степени пролиферации проводили при помощи стереометрического метода с использованием окулярной сетки. Из стереометрических параметров определяли суммарную поверхность железистого эпителия и соединительно-тканной стромы, а также индекс корреляции между ними. Статистическую обработку проводили по методу Стьюдента.

С целью определения морфологических изменений, наступающих в слизистой оболочке толстой кишки (СОТК) экспериментальных животных, последним в/бр, в/м и п/к вводили ДНК, выделенную из опу-



Динамика морфологических изменений в слизистой толстой кишки крыс после введения им опухолевой ДНК

а—4—6 недель, изменение архитектоники желез с удлинением крипт; б—6—7 недель, аденома с легкой дисплазией; в—7—8 недель, аденома с умеренной дисплазией; г—9—10 недель, аденома с признаками тяжелой дисплазии; д—12 недель, рак *in situ*, а, б, г, д—ув. $\times 80$, в—ув. $\times 160$, окраска гематоксилин-эозином.

холи человека, в дозе 100 мкг/крыса однократно. Опытную группу животных, получивших опухолевую ДНК, составили 100 крыс. Контролем служила группа из 20 животных, получивших в/бр неопухоле-

вую ДНК из селезенки крупного рогатого скота в дозе 100 мкг/крыса.

Результаты и обсуждение

При гистологическом исследовании СОТК контрольных животных во все сроки наблюдения особых изменений не выявлено. При микроскопическом изучении отмечается небольшое изменение архитектоники желез с удлинением крипт, выявлена очаговая гиперплазия желез, эпителий этих желез находится в состоянии умеренной пролиферации. В строме наблюдаются отек, полнокровие капилляров и лимфоидная инфильтрация (таблица).

Динамика морфологических изменений в слизистой оболочке толстой кишки крыс после введения опухолевой ДНК

Препарат	Пути введения	Кол-во животных	Сроки наблюдения (в неделях)			
			4-6	6-7	7-8	9-10
ДНК+РНК-аза	в/бр	70	наруш. архитектоники желез. пролиф. крипт, эпителия и повыш. функц. бокаловидн. клеток	тубулярная аденома с легкой дисплаз.	тубулярная аденома с призна. легкой и умерен. дисплазии	тубулярная аденома с призна. тяжелой дисплазии
	в/м	10	без морф. измен.	.	.	.
	п/к	10	"	.	.	.
ДНК+ДНК-аза	в/бр	10
Неопухолевая ДНК (контроль)	в/бр	20	очаговая гиперплазия желез	.	.	"

В опытной группе животных в различные сроки после введения опухолевой ДНК в/м и п/к макроскопических изменений со стороны легких, желудка, печени, тонкой кишки не выявлено. При микроскопическом изучении паренхимы указанных органов также значительных изменений не обнаружено, за исключением соединительно-тканной стромы, где отмечаются дистрофические изменения очагового характера. Никаких изменений не было выявлено и в толстой кишке животных при этих путях введения ДНК. В то же время гистологическое изучение СОТК крыс, которым опухолевая ДНК была введена в/бр, выявило морфологические изменения, усиливающиеся в динамике наблюдения. Так, в сроки 4—6 недель после инъекции крысам опухолевой ДНК отмечалось нарушение архитектоники железистых структур, а также удлинение крипт с уменьшением межкрипталльных расстояний, где соединительная ткань проходит в виде тонких прослоек. В криптах наблюдалась пролиферация цилиндрического эпителия (в отдельных случаях с накоплением слизи в просвете) и повышение функции бокаловидных клеток (рис. а). При определении количественных показателей установлено, что суммарная поверхность эпителия составляет $24,3 \pm 1,2$ единиц площади (ЕП), а поверхность сое-

дивительно-тканной стромы— $28,0 \pm 0,9$ ЕП, индекс корреляции равен 0,9. Гистологическое изучение СОТК животных через 6—7 недель после в/бр введения ДНК выявило наличие тубулярной аденомы с легкой дисплазией (рис. б).

При динамическом изучении СОТК опытных животных в более поздние сроки (7—8 недель) отмечались видимые макроскопические изменения. Во всех отделах толстой кишки имелись полиповидные образования, выступающие над поверхностью слизистой оболочки, с гладкой поверхностью. В ряде случаев наряду с полиповидными образованиями имелись очаги утолщения слизистой. При гистологическом исследовании полиповидных образований установлена картина тубулярной аденомы легкой и умеренной дисплазии (рис. в), а в единичных полипах процессы структурной и клеточной атипии были более значительными. В очагах уплотнения и утолщения выявлены плоские тубулярные аденомы с легкой дисплазией. Количественный анализ показал, что при легкой дисплазии поверхность эпителия составляет $41,2 \pm 1,5$ ЕП, стромы— $32,4 \pm 2,5$ ЕП с индексом корреляции—0,7. При умеренной дисплазии эти показатели соответственно составляли $52,4 \pm 2,5$ и $29,0 \pm 3,1$ ЕП, а индекс корреляции—1,8.

Изучение СОТК в сроки 9 недель и более обнаружило наличие аденомы с тяжелой дисплазией (рис. г). Стереометрический анализ показал, что поверхность эпителия равна $61,0 \pm 3,6$, стромы— $21,1 \pm 1,2$ ЕП, индекс корреляции между эпителием и стромой—2,9. В одном случае через 12 недель после инъекции опухолевой ДНК макроскопически выявлено опухолевидное образование. Микроскопическим исследованием обнаружена аденома с тяжелой дисплазией и картиной очагового рака (рис. д). При количественном анализе установлено, что поверхность железистого эпителия составляет 78,0, а стромы—14,9 ЕП, индекс корреляции—5,5.

Полученные нами данные говорят о возможной трансформирующей активности человеческой опухолевой ДНК. Для подтверждения этого группе животных была введена опухолевая ДНК, обработанная ДНК-азой. Как видно из таблицы, у этих крыс морфологических изменений в толстой кишке не обнаруживалось. Аналогичные данные получены также при в/м и п/к путях введения опухолевой ДНК. В то же время введение животным в/бр опухолевой ДНК, обработанной РНК-азой, приводило к значительным морфологическим изменениям в слизистой оболочке толстой кишки крыс. Экспрессия человеческой опухолевой ДНК выявлялась только при в/бр пути введения, а морфологические изменения в изучаемые сроки обнаруживались в толстой кишке экспериментальных животных.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют, что ДНК, выделенная из опухоли толстой кишки человека, обладает способностью реализовать содержащуюся в ней информацию на организменном уровне.

**ՀԱՍ ԱՂՈՒ ԼՈՐՉԱԲԱՂԱԹԻ ԶԵՎԱԲԱՆԱԿԱՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ
ԱՌՆՅՆՆԵՐԻ ՄՈՏ ԻՆՎՈՒՑՎԱԾ ՈՒՌՈՒՑՔԱՑԻՆ ԴԵՔ-ՈՎ**

Ուսումնասիրված է մարդու հաստ աղուց արտազատված ադենոկարցինոմայի ուռուցքային ԴՆԹ-ի կենսաբանական ակտիվությունը: Յուրջ է տրված, որ մարդու ուռուցքային 100 մկգ ԴՆԹ-ի ներորոգման ընթացքում փորձնական կենդանիների հաստ աղու մեջ բերում է նեոպլաստիկ փոփոխությունների զարգացման: Ուսումնասիրված է ձևաբանական փոփոխությունների զարգացման դինամիկան թույլ աստիճանի դիսպլազիաներից մինչև քաղցկեղի առաջացումը:

O. Ya. DAVTIAN, A. A. BAGHDASSARIAN, Ye. V. MANOUKIAN,
L. A. ROUKHKIAN, R. A. ZAKARIAN, A. S. AGHABALIAN

**THE MORPHOLOGIC CHANGES OF THE LARGE INTESTINE
MUCOUS MEMBRANE IN RATS, INDUCED BY TUMORAL DNA**

The biological activity of tumoral DNA, extracted from the adenocarcinoma of the human large intestine has been studied. It is shown that the intraperitoneal injection of 100 mkg of the human tumoral DNA results in the development of neoplastic changes in the large intestine of the experimental animals. The dynamics of the large intestine morphologic changes' development is described.

ЛИТЕРАТУРА

1. Альтштейн А. Д. Всесоюз. хим. журнал им. Менделеева, 1973, 18, с. 630.
2. Киселев Ф. Л., Татосян А. Г., Гудков А. В. и др. Итоги науки и техники: Вирусология, в 10. М., 1983, с. 169.
3. Киселев Ф. Л. Всесоюз. хим. журнал им. Менделеева, 1986, 3, с. 272.
4. Князев П. Г., Кузнецов О. К., Перевозчиков А. П. и др. Вопр. онкол., 1976, 1, с. 47.
5. Тихоненко Т. И. Всесоюз. хим. журнал им. Менделеева, 1986, 3, с. 286.
6. Bishop J. M. Ann. Rev. Biochem., 1983, 52, 301.
7. Cooper G. M. Cell, 1983, 31, 263.
8. Huebner R., Todaro G. Proc. Natr. Acad. Sci. USA, 1972, 69, 3324.
9. Marmur J. A. J. Mol. Biol., 1961, 12, 468.

УДК 616.75—018.2—073.75

Г. А. ТОНОЯН, Ю. А. РАПЯН

**РЕНТГЕНОГРАФИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНЫХ
ИЗМЕНЕНИЙ В КОЛЛАГЕНОВЫХ ВОЛОКНАХ СУХОЖИЛИИ
БЕЛЫХ КРЫС, ПОДВЕРГНУТЫХ ХРОНИЧЕСКОМУ
ВОЗДЕЙСТВИЮ ПОСТОЯННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ**

Изучено влияние постоянного магнитного поля на структуру коллагенового волокна сухожилий белых крыс при многократном облучении. Показано, что многократное облучение постоянного магнитного поля вызывает изменения в структуре коллагенового волокна сухожилий, в частности, резко меняется степень ориентации кристаллитов в коллагеновых волокнах сухожилий задней конечности белых крыс.

В наших исследованиях [3—6] было показано, что под воздействием постоянного магнитного поля (ПМП) на целостный организм