

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ, ОНКОЛОГІЇ
ТА РАДІОБІОЛОГІЇ ім.Р.Є.КАВЕЦЬКОГО

На правах рукопису

Галенко Поліна Михайлівна

ДЕЯКІ БІОХІМІЧНІ ЗМІНИ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ ПРИ КОМБІНОВАНИЙ ДІЇ
ПОПЕРЕДНИКІВ ЕНДОГЕННОГО СИНТЕЗУ N-НІТРОЗОСПОЛУК
ТА ІОНІЗУЮЧОЇ РАДІАЦІЇ

14.00.14 - Онкологія

АВТОРЕЗЮМЕ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ - 1995



00778045 (V)

Дисертацією в рукопис.

Роботу виконано в Інституті експериментальної патології, онкології та радіобіології ім.Р.Є.Кавецького НАН України.

Науковий керівник - доктор біологічних наук,
професор В.Л.РУБЕНЧИК.Офіційні опоненти: доктор медичних наук,
професор В.А.БАРАВОЙ;
старший науковий співробітник,
кандидат біологічних наук Л.О.ОСИПОВА.Провідна установа - НДІ загальної і комунальної гігієни
ім.О.М.Марвеева Республіканського науко-
вого гігієнічного центру МОЗ України.Захист відбудеться " " _____ 1995 р. о ___ годині ___ хв.
на засіданні спеціалізованої вченої ради Д016.38.01 в Інституті
експериментальної патології, онкології та радіобіології ім.Р.Є.Ка-
вецького НАН України (252022, м.Київ-22, вул. Васильківська, 45).В дисертацію можна ознайомитися в бібліотеці Інституту ек-
спериментальної патології, онкології та радіобіології ім.Р.Є.Ка-
вецького НАН України.

Автореферат розісланий " " _____ 1995 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
кандидат біологічних наук

Ю.В.Янін

ЛННБ ім. В. Стефаніка
АН України

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми. Предметом дослідження нової синтетичної дисципліни - екологічної онкології - є встановлення взаємозв'язку між забрудненням оточуючого середовища канцерогенними факторами різної природи та виникненням пухлин у людини і тварин. Складна екологічна ситуація в Україні, коли, поряд із традиційними хімічними канцерогенними забруднювачами, після аварії на ЧАЕС почав діяти канцерогенний фактор фізичної природи - іонізуюча радіація, потребує нових підходів до вивчення комбінованого впливу на організм вказаних факторів.

Серед різних класів хімічних канцерогенів N-нітрозосполуки (НС) посідають особливе місце, що обумовлено їх значним розповсюдженням у навколишньому середовищі, високою канцерогенною активністю та широким спектром біологічної дії взагалі (Bartch H., Montesano R., 1976; Рубенчик В.Л., 1990). Отримано прямі докази канцерогенності НС для людини і епідеміологічно виявлена їх причетність до розвитку раку (Walters C. et al., 1985; Preston-Martin S., 1987; Боговский П.А., 1987). НС потрапляють в організм людини із навколишнього середовища, окрім того, вони можуть синтезуватися в організмі з попередників, що, можливо, має більше значення у генезі раку, ніж їх зовнішнє надходження (Боговский П.А., 1985). Утворення НС із попередників може відбуватися в організмі тварин і людей (Sander J., 1967; Fine D.H. et al., 1977; Lijinsky S., 1980), причому у тварин ендогенні НС викликали ті ж пухлини, які виникають при введенні відповідних екзогенних НС (Sander J., Burkle G., 1969). Процес ендогенного синтезу НС залежить від багатьох факторів і може модифікуватися - підсилюватися або пригнічуватися (Рубенчик В.Л., 1990). Попередники НС, зокрема нітрит натрію (НН), за певних умов також можуть модифікувати вираженість ефектів ендогенно синтезованих НС (Михайленко В.М., 1988).

Внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС значні території України забруднені радіонуклідами (Серкив Я.И. и др., 1992). Виникнення у людей і тварин лейкозів і солідних пухлин (рак легенів, молочної та щитовидної залози та ін. органів) під дією іонізуючих випромінювань є встановленим фактом (Москалев Ю.И., 1991; Глузман

Д.Ф. и др., 1994).

Комбінований вплив радіації та НС і їх попередників на організм недосить вивчений. Аналіз літератури по цій проблемі виявив значний діапазон розбіжностей та протиріч (Ulrich R.L., 1980; Виленчик М.М., 1983; Виленчик М.М., 1985; Кузин А.М., Виленчик М.М., 1985; Москалев Ю.И., Стрельцова В.Н., 1985; Василенко И.Я. и др., 1986). Усі описані дослідження виконувалися на експериментальних моделях внутрішнього і/або зовнішнього опромінення рівної природи, а дія опромінення того спектру і тієї природи, що має місце внаслідок аварії на ЧАЕС, не досліджувалася. У попередніх дослідженнях нашої лабораторії виявлено мутагенний, канцерогенний та трансформуючий ефект НН на культурах тканин (Rubenchik B.L. et al., 1990), але немає повідомлень про вивчення можливого модифікуючого впливу НН на біологічні ефекти НС в умовах радіаційного забруднення. Необхідно в'ясувати також, як співвідносяться результати модельних експериментів по вивченню комбінованого впливу на організм радіації, НС та їх попередників із реальною ситуацією, яка склалася внаслідок забруднення навколишнього середовища радіонуклідами.

Таким чином, актуальність дослідження полягає у вивченні комбінованого впливу забруднювачів оточуючого середовища - комплексу радіаційних факторів в зоні аварії на ЧАЕС та попередників ендогенного синтезу канцерогенного N-нітродиметиламіну (НДМА).

Мета роботи. Дослідити деякі маркерні біохімічні зміни в організмі експериментальних тварин, обумовлені комбінованим впливом комплексу радіаційних факторів в зоні аварії на ЧАЕС, γ -опромінення та попередників ендогенного синтезу канцерогенного N-нітродиметиламіну.

Задачі дослідження. 1. За допомогою біохімічних маркерів (визначення однострочкових розривів ДНК, метаболічної активності печінки в тесті Еймса) дослідити короточасний та довготривалий вплив радіації в зоні аварії на ЧАЕС на організм щурів при комбінованій дії з попередниками НДМА. 2. Дослідити маркерні зміни та бластомогенний ефект на щурів γ -опромінення та попередників НДМА. 3. Виявити та узагальнити особливості комбінованої дії на тваринний організм радіації, НС та їх попередників.

Наукова новизна. Вперше досліджено комбінований вплив радіаційних факторів в зоні аварії на ЧАЕС та попередників ендогенного

синтезу канцерогенного НДМА. Виявлено підсилюючий вплив передобробки нітритом натрію на генотоксичний ефект попередників НС на фоні радіаційного забруднення. Показана однакова направленість маркерних змін у щурів під впливом радіаційного забруднення в зоні аварії на ЧАЕС та модельного γ -опромінення. Охарактеризовано особливості комбінованої дії на організм радіації, НС та Іх попередників і один із можливих механізмів модифікації генотоксичного та бластомогенного ефекту цих факторів, пов'язаний з рівнем метаболічної активності печінки.

Науково-практична значущість. Модифікуючий вплив нітриту натрію на біологічні ефекти НС в комбінації з радіаційними факторами і взаємна модифікація ефектів останніх свідчить про необхідність перегляду гігієнічних нормативів щодо радіації та хімічних агентів в районах з підвищеним рівнем цих забруднювачів навколишнього середовища. Розроблено експериментальну модель для дослідження комбінованих біологічних ефектів НС та Іх попередників та радіаційного забруднення внаслідок аварії.

Апробація роботи. Матеріали дисертації представлені на Всеюзовній конференції "Радиобиологические последствия аварии на Чернобыльской АЭС" (Минск, 1991), на Радиобіологічному з'їзді (Київ, 1993), а також на конференції молодих вчених Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є.Кавецького АН України (Київ, 1992, відзначено II-ю премією).

Декларація про особистий внесок. В результаті проведених досліджень автором показано, що при комбінованому впливі комплексу радіаційних факторів в зоні аварії на ЧАЕС і попередників ендогенного синтезу канцерогенного НДМА та при модельному γ -опроміненні маркерні зміни в організмі щурів мають однакову направленість. Виявлено підсилюючий вплив передобробки нітритом натрію при генотоксичній дії попередників НС на фоні радіаційного забруднення. Автором проаналізовано особливості комбінованої дії на організм радіації, НС та Іх попередників і охарактеризовано один із можливих механізмів модифікації генотоксичного та бластомогенного ефекту цих факторів при комбінованій дії.

Положення, що виносяться на захист:

1. При комбінованій дії попередників НДМА та іонізуючої радіації має місце антагоністичний ефект щодо пошкодження ДНК, обумовлений, вірогідно, пригніченням метаболічної активації канцero-

гену внаслідок опромінення.

2. Нітрит натрію при хронічному надходженні в організм підсилює вплив попередників НДМА та радіації на метаболічну активність печінки і пошкодження ДНК.

3. Маркерні зміни в організмі щурів під впливом радіації в зоні аварії на ЧАЕС і модельному γ -опроміненні мають однакову направленість.

Обсяг та структура роботи. Дисертація складається із 6 глав, включає вступ, огляд літератури, опис методик, власні дослідження і висновки. Робота викладена на 115 сторінках машинописного тексту, ілюстрована 6 таблицями і 11 рисунками. Список літератури містить 182 вітчизняних і зарубіжних джерел.

ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи дослідження. Роботу виконано на 461 нелінійних щурах-самцях вагою 180-200 г та віком 3 міс. розводки виварію Інституту експериментальної патології, онкології та радіобіології ім.Р.Є.Кавецького НАН України та щурах тієї ж розводки, що були народжені і утримувалися на експериментальній базі в м. Чорнобилі та являлися нащадками 4-ї генерації тварин, завезених туди у 1989 р. (надалі називатимемо їх чорнобильськими). Харчовий раціон їх складали корми, вироблені в Хойницькому районі Гомельської області забруднені радіонуклідами, які випали внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС - сумарна доза зовнішнього гамма-фону складала 2,1 сГр за життя, при середній тривалості життя 24 міс.; внутрішнє опромінення обумовлювалося поглиненими в кормі радіонуклідами - активність добового раціону становила в середньому 224 Бк. У віці 3 міс. тварин четвертого покоління доставили для досліджень у м.Київ.

Попередники НДМА вводилися внутрішньошлунково двоканальним зондом в дозах НН - 125 мг/кг, амідопірин (АП) -250 мг/кг (гостре введення), або надходили в організм щурів в дієтою. Модельне γ -опромінення проводили на установці ІГУР-1.

Дослідження змін метаболічної активності печінки проводилося у стандартному тесті Еймса з використанням штаму *Salmonella typhimurium* TA 98, промутагену 2-ацетиламінофлюорену (ААФ) у відповідності з Міжнародним ревізованим протоколом (Maron D.M., Ames

B.N., 1983; Фонштейн Л.М. и др., 1983); постмітохондріальну фракцію печінки отримували загальновідомим методом (Карувина І.І., Арчаков А.І., 1977).

Виділення ДНК із тканини печінки проводили хлороформним методом (Филиппович Ю.В. и др., 1982; Umbenhauer D., Pegg A., 1981). Для проведення HPLC-аналізу ДНК, виділену із тканини печінок шурів гідролізували ферментативно, як описано (Kuo K.C. et al., 1980). Вміст 5-мЦ у ДНК визначався хроматографічно, як описано (Shivapurkar N. et al., 1984.) в використанні системи Waters HPLC і Beckman Ultrasphere-ODS C₁₈ (5 мікрон).

Визначення пошкодження ДНК гепатоцитів (виникнення одониткових розривів) проводилося за методом (Ahnstrom G., Erixon K., 1973) у модифікації Газієва А.І. (Газієв А.І. и др., 1979).

Вміст НДМА у крові визначали шляхом прямої екстракції етилацетатом в внутрішнім стандартом (N-нітродипропіламін) та подальшого аналізу екстракту за допомогою детектуючої системи: газовий хроматограф "Газохром 09" + термальний аналізатор енергії ТЕА 502 А (США) сумісно із ст.н.с., к.б.н. Главінін О.А. При розрахунку вмісту НДМА робили поправку на вихід внутрішнього стандарту (Fine D.H., Rounbehler D.P., 1975; Fine D.H., Rounbehler D.P., 1976).

Морфологічні дослідження проводилися сумісно із ст.н.с., к.б.н. Недопитанською Н.М. за загальноприйнятими методиками.

Статистичну обробку результатів проводили в використанні критерію Стьюдента, критерію χ^2 Пірсона (Лакін Г.Ф., 1990) та методу множинних порівнянь Даннета (Фонштейн Л.М. и др., 1985). Дисперсійний аналіз багатфакторних комплексів проводили як описано (Лакін Г.Ф., 1990) в використанні програми Б.А.Главіна (КДУ) для розрахунків по двофакторним комплексам.

Результати досліджень. У першій серії дослідів, проведених на щурах, що зазнали впливу комплексу радіаційних факторів в зоні аварії на ЧАЕС (рис. 1), виявлено, що спонтанний рівень ОНР ДНК гепатоцитів київських і чорнобильських шурів співпадає, проте довготривале надходження в їх організм НН (7 міс.) приводить до деякого підвищення цього показника у київських шурів та до статистично достовірного ($P < 0,05$) зниження його у чорнобильських тварин. При гострому введенні попередників у гепатоцитах тварин київської серії спостерігається зростання рівня ОНР в 1,6 рази

відносно свого контролю, а у чорнобильських тварин такого підвищення не відмічено. Гостра затравка попередниками на фоні хронічної передоброби НН у київських щурів привела до зростання рівня ОНР у 2 рази порівнянно з контролем, а у чорнобильських - тільки в 1,4 рази. Співставлення груп із повним комплексом впливів (НН)+(НН+АП) показало, що у щурів 4-ї генерації, народжених в зоні аварії на ЧАЕС і предки яких утримувалися там же, рівень ОНР ДНК у 1,4 рази нижчий, ніж у київських тварин, які не вважали впливу радіації.

Таким чином, різні варіанти впливу попередників НДМА виявили однакові тенденції утворення ОНР ДНК гепатоцитів у всіх досліджуваних тварин, проте у експериментальних щурів чорнобильської серії ефекти знижені в середньому у 1,4 рази.

Рівень ОНР ДНК ми розглядали як результуючий показник, що характеризує кінцевий етап процесів, які мають місце при введенні в шлунок щурів попередників НДМА, а саме: реакцію нітровання аміну (в даній моделі - АП) нітруючим агентом - НН, внаслідок чого утворюється НДМА; надходження НДМА до органів і тканин, що мають ферментні системи детоксикації ксенобіотиків (печінка, нирки, легені); метаболічні перетворення НДМА в утворенням алкілюючих агентів, які, в свою чергу, взаємодіють з ДНК. Тому можна очікувати, що аміни рівню метаболічної активності печінки повинні відобразитися на результуючому показнику багатоетапного процесу - на пошкодженні ДНК.

Визначення метаболічної активності S₉ фракції печінки щурів в тесті Еймса показало (рис. 2), що у щурів, які вважали впливу надфонової дози радіації в зоні аварії на ЧАЕС, спостерігається індукція ферментних систем печінки, які перетворюють тест-промутаген ААФ у мутагенні метаболіти. Тривалий вплив НН підвищив метаболічну активність S₉ у щурів київської і знизив у тварин чорнобильської серії. Гостре введення попередників чорнобильським тваринам привело, на відміну від київських, до різкого пригнічення метаболічної активності печінки. Цей ефект спостерігався і при введенні попередників на фоні довготривалої передоброби щурів НН.

Отже, при хронічному впливі комплексу радіаційних факторів в зоні аварії на ЧАЕС, метаболічна активність детоксикаційних систем печінки перебуває у індукованому стані, про що свідчать ре-

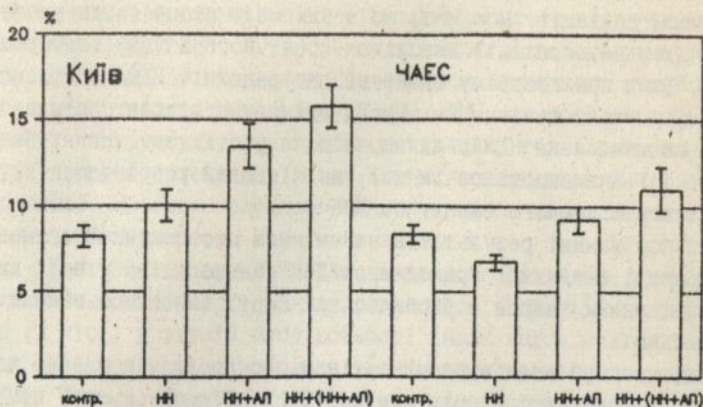


Рис. 1. Кількість одностранных разрывів ДНК гепатоцитів щурів при дії попередників НДМА, НН та комплексу радіаційних факторів в зоні аварії на ЧАЕС.

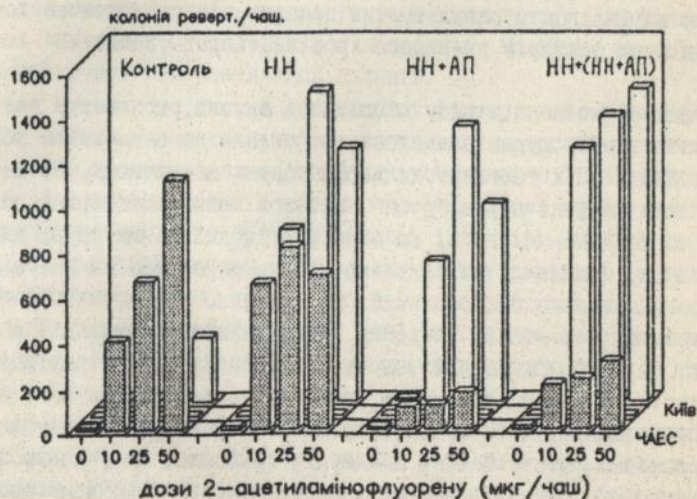


Рис. 2. Метаболічна активація 2-ацетиламінофлуорену S_9 фракцією печінки щурів, що завнали впливу попередників НДМА, НН та комплексу радіаційних факторів в зоні аварії на ЧАЕС у тесті Еймса.

вультати тесту Еймса. Треба звернути увагу на те, що в дослід взято тварин, що не тільки народилися та деякий час перебували в зоні аварії, а й предки яких на протязі 3-х поколінь знаходилися під впливом радіації. Можливо, що в них мало місце певне виснаження систем детоксикації внаслідок хронічного впливу індукуючого фактора. Тому при гострому введенні попередників НДМА комплексна система ферментів печінки не змогла адекватно відреагувати на ендогенно синтезований НДМА, що виразилося у стійкому пригніченні метаболічної активності печінки і, як кінцевий результат, - у зниженні пошкоджуючого ефекту на ДНК.

При порівнянні результатів визначення метаболічної активності S₉ фракції печінки і пошкодження ДНК гепатоцитів, у всіх випадках показники тварин чорнобильської серії виявилися нижчими, ніж київської.

Трифакторний аналіз результатів цього дослідження показав, що на долю нерегульованих факторів при даній схемі експерименту припадає 24,79% пошкодження ДНК. Із сумарних 75,21% по результуючій ованці найбільш ефективним виявилось введення попередників - 48,77%. Вклад радіаційних факторів в зоні аварії у пошкодження ДНК оцінюється в 23,01%, що вдвічі нижче, ніж попередників. І невзначною за вкладом у результуючий показник із статистично достовірно діючих факторів виявилася хронічна передобробка НН - 3,43%.

Двофакторний аналіз ряду комплексів виявив, що гостре введення попередників щуром виявилось ефективним за показником пошкодження ДНК в усіх розглянутих двофакторних комплексах. Введення попередників на фоні передобробки НН також мало достовірний вплив у межах чорнобильських груп, на відміну від київських груп, для яких в такому комплексі не виявлено ефекту передобробки НН, а лише гострого введення попередників. Не виявлено статистично достовірної взаємодії факторів введення попередників та радіації в зоні аварії на ЧАЕС. Однак для тварин, що зазнали впливу радіаційних факторів, виявлено взаємодію хронічної передобробки НН і введення попередників, чого не спостерігається у київських групах.

Визначення вмісту 5-мЦ у ДНК щурів показало, що у контрольних групах обох популяцій рівень 5-мЦ не відрізнявся, так само як і при хронічній (7 міс.) передобробці НН. Гостре введення попередників НДМА привело до статистично достовірного ($P < 0,01$) зни-

ження цього показника у київських тварин, що, виходячи з даних літератури (Бурцева Н.Н. и др., 1977; Wainfan E., Poirier L.A., 1992; Kass S.U. et al., 1993), свідчить про підвищення експресії генетичної інформації; ці результати корелюють із збільшенням кількості ОНР ДНК. В той же час, введення попередників тваринам, що хронічно споживали НН, навпаки, викликало статистично достовірне збільшення вмісту 5-МД у ДНК, як порівнянно з рівнем 5-МД у контрольних групах обох популяцій, так і з групами, які були передоброблені НН, в той час як пошкодження ДНК в цих групах зростало. Можливо, передобробка НН якимось чином впливає на процеси ферментативного метилювання ДНК.

Наступним етапом досліджень стало порівняльне вивчення короткочасного (3 міс.) впливу радіації в зоні ЧАЕС та передобробки НН (3 міс.) у різній послідовності (коли вплив радіації передувє дії НН і навпаки) в комбінації з гострим введенням попередників НДМА. Така постановка експерименту мала на меті визначити, як співвідносяться біологічні ефекти досліджуваних факторів в залежності від послідовності впливу та оцінити вираженість цих ефектів при короткочасній експозиції.

Вивчення пошкодження ДНК шляхом визначення ОНР показало, що у гепатоцитах щурів жодної із дослідних груп не виникло додаткових пошкоджень, порівнянно з контролем. Можливо, це обумовлено короткочасністю зазначених впливів.

Як видно з рис. 3, радіаційні фактори в зоні аварії на ЧАЕС при короткочасному впливі не індукували метаболічну активність печінки, проте після такого впливу НН значно її підсилював, чого не відбувалося при дії тільки НН, і введення попередників таким щурам приводило до більш вираженої індукції - гостре введення попередників НДМА щурам, що зазнали впливу радіації і потім були передоброблені НН, привело до зростання активності ферментів постмітохондріальної фракції у 3 рази, а при зворотній послідовності - тільки у 2 рази. Ці результати узгоджуються з даними літератури (Фурман М.О., 1992).

Для правильної інтерпретації результатів, отриманих на чорнобильських щурах, було проведено досліді в модельним γ -опроміненням. Визначення метаболічної активності постмітохондріальної фракції печінки в тесті Еймса (рис. 4) показало, що при введенні попередників НДМА ця активність підвищується і при дозі 50 мкГ

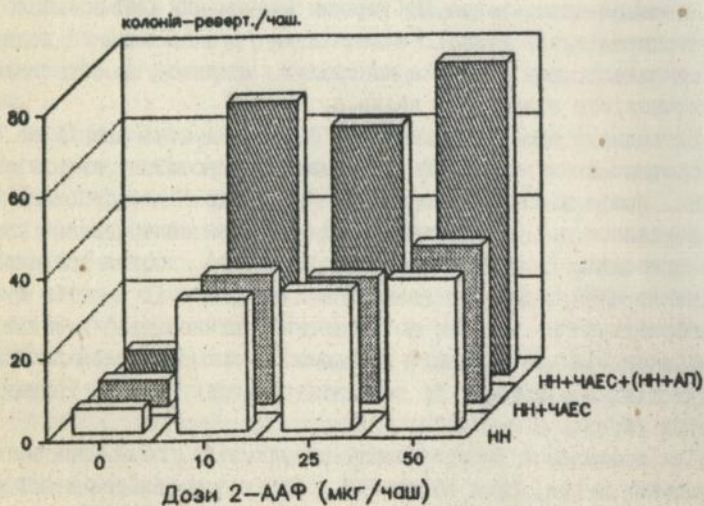
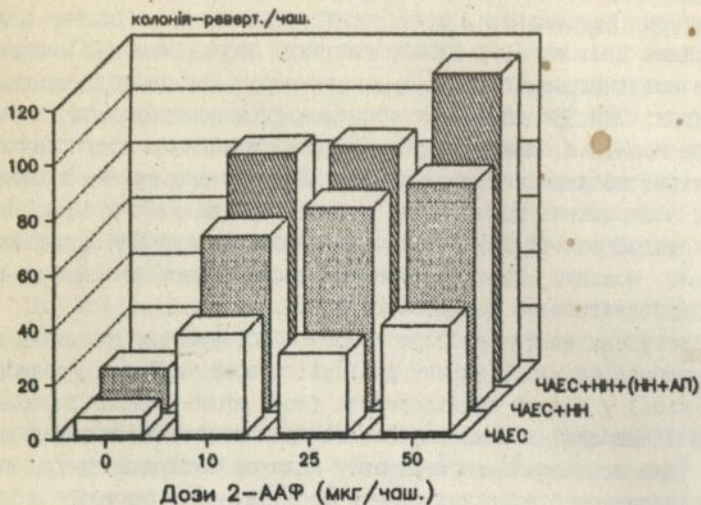


Рис. 3. Метаболічна активація 2-ацетиламінофлюорену S₉ фракцією печінки щурів при короткочасному (3 міс.) впливі NH, радіації в зоні аварії на ЧАЕС та введення попередників НДМА у тесті Еймса.

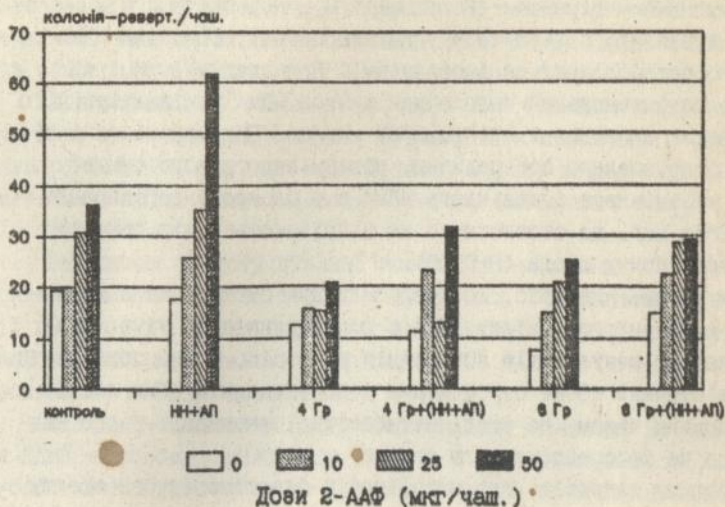


Рис. 4. Метаболічна активація 2-ацетиламінофлюорену S₉ фракцією печінки щурів при γ-опроміненні та введенні попередників НДМА у тесті Еймса.

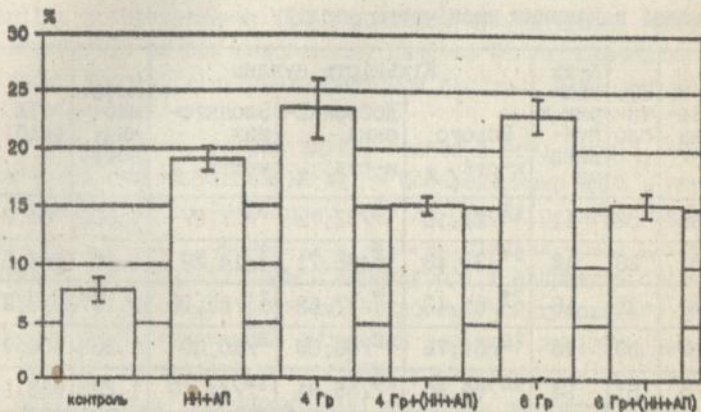


Рис. 5. Кількість одониткових розривів ДНК гепатоцитів щурів при γ-опроміненні та введенні попередників НДМА.

метаболізму НДМА - піразолу (Perciballi M., Notchkiss J.H., 1989), що дозволило підвищити чутливість методу, оскільки НДМА дуже швидко метаболізується в організмі. При введенні НН і АП спостерігався інтенсивний ендogenous синтез НДМА і кількість його в крові тварин складала $1,9110 \pm 0,2739$ мкг/мл. При опроміненні щурів, яким було введено попередники, рівень ендogenous синтезу практично не змінився і кількість НДМА в 1 мл крові дорівнювала $1,3290 \pm 0,3661$ мкг, що статистично не відрізняється від такої в крові неопромінених щурів ($P > 0,05$).

Таким чином, виявлено, що γ -опромінення суттєво не впливає на процес ендogenous синтезу НДМА в попередників *in vivo*. Отже, повертаючися до результатів попередніх розділів, можна припустити, що антагоністичний ефект опромінення і попередників НДМА лімітується, головним чином, на етапі метаболічної активації цього канцерогену, а не його ендogenous синтезу.

Однозначну відповідь про модифікацію бластомогенного ефекту попередників при комбінованій дії з γ -опроміненням було отримано у хронічному досліді на вихід пухлин, проведеному на 276 щурах. Експеримент тривав 126,3 тижні (29,5 міс.) і припинений, виходячи з рекомендацій МАДР (IARC Monogr., 1980).

Табл. 1. Основні показники хронічного досліді

N	Вплив	К-ть тварин	Еф. чи-сло	К-ть тварин з пухлинами	Кількість пухлин			Коеф. множинності	СТЖ (діб)
					Всього к-сть / %	Доброякісних к-сть / %	Злоякісних к-сть / %		
1	контр.	65	52	11	11/21,15	8/72,73	3/27,27	1,000	764,9
2	опром.	37	28	12	14/32,43	12/85,71	2/14,29	1,167	684,6
3	НН	38	35	18	21/51,43	10/47,62	11/52,38	1,167	613,5
4	НН+опр.	37	29	15	20/51,72	12/60,00	8/40,00	1,333	664,9
5	НН+АП	61	51	34	43/66,66	24/55,81	19/44,19	1,265	688,1
6	НН+АП+опром.	38	36	20	27/55,55	16/59,26	11/40,74	1,350	613,5

Після закінчення 7-місячного терміну споживання НН+АП або НН та 10-разового опромінення експериментальних груп у дозі 1 Гр в

інтервалом 7 діб на протязі останніх 10 тижнів споживання попередників, тварини отримували стандартний корм. Трупні вагиблх щурів відбиралися для розтину і встановлення причини смерті.

При розтині протокольно реєстрували: зовнішні особливості, нашкірні та підшкірні пухлини, пухлини молочних залоз, кишечника, шлунку, печінки, органів малого таза, нирок, надниркових залоз, селезінки, підшлункової залози, тимусу, щитовидної залози, легень та гіпофізу.

Визначали частоту пухлин, коефіцієнт множинності, середню тривалість життя (СТЖ) тварин з пухлинами. Розрахунки проводили від ефективного числа, поправку на інтеркурентну смертність вносили за методом G.Reissing (Reissing G., 1956). Основні показники хронічного досліді представлені у табл. 1.

Аналіз результатів цього експерименту показав, що попередники НДМА викликають найбільшу кількість пухлин найширшого спектру; γ -опромінення приводило до деякого зниження частоти пухлин у щурів, що споживали НН і АП та зміни їх спектру, підвищувало коефіцієнт множинності; γ -опромінення в комбінації з НН, не впливаючи на загальну частоту пухлин, приводило до підвищення коефіцієнту множинності пухлинних вузлів на тварину; γ -опромінення привело до збільшення СТЖ щурів, що споживали НН, але зменшувало її у комбінації з попередниками; за характером кумулятивних кривих можна припустити, що при ендогенному синтезі НС із попередників у хронічному досліді лімітуючим фактором виступає нітрозуючий агент - НН.

Таким чином, як радіаційні впливи в зоні аварії, так і γ -опромінення при комбінованій дії з попередниками НДМА у короткотермінових тестах та хронічному досліді, однонаправлено модифікують ефекти останніх - виявляється антагоністичний ефект цих факторів. Очевидно, вирішальну роль у вираженості і направленості ефекту відіграє метаболічна активація ендогенно синтезованого канцерогенного НДМА ферментними системами печінки, оскільки пряме фізико-хімічне визначення вмісту НДМА у крові тварин при введенні його попередників і γ -опроміненні показало, що опромінення суттєво не впливає на сам процес ендогенного синтезу.

ВИСНОВКИ:

1. Рівень одониткових розривів (ОНР) ДНК гепатоцитів київських і чорнобильських щурів однаковий, але при гострому введенні попередників N-нітродиметиламіну - нітриту натрію (НН) і амідопірину (АП) - утворення ОНР у чорнобильських щурів в 1,4 рази нижче, ніж у київських.

2. Багатофакторний дисперсійний аналіз показав, що вклад попередників НДМА у пошкодження ДНК вдвічі перевищує такий, обумовлений радіацією в зоні аварії на ЧАЕС, а взаємодії цих факторів не виявлено.

3. У щурів 4-ї генерації, народжених від батьків, завезених у м. Чорнобиль і безперервно утримуваних там, метаболічна активність печінки вища від такої у київських щурів; проте гостре введення попередників НДМА значно пригнічує метаболічну активність печінки цих щурів, що корелює із зниженням кількості ОНР ДНК гепатоцитів.

4. Короткочасний (3 міс.) вплив радіації в зоні аварії на ЧАЕС не приводить до виникнення ОНР ДНК гепатоцитів, але підвищує чутливість монооксигеназної системи печінки до наступної дії НН.

5. Нітрит натрію при довготривалому надходженні в організм щурів індукуює метаболічну активність печінки та посилює виникнення ОНР ДНК в умовах комбінованого впливу попередників НДМА і радіації.

6. Довготривале надходження в організм щурів НН обумовило підвищення вмісту 5-метилцитозину у ДНК гепатоцитів чорнобильських і київських щурів при гострому введенні попередників НДМА.

7. Гамма-опромінення суттєво не впливає на процес ендогенного синтезу НДМА із попередників, але пригнічує метаболічну активність печінки щурів, яка залишається на тому ж рівні при введенні попередників.

8. Гамма-опромінення модифікує бластомогенний ефект попередників НДМА: підвищує коефіцієнт множинності; дещо зменшує частоту пухлин при споживанні НН і АП і не впливає на частоту пухлин, обумовлених НН; скорочує тривалість життя щурів з пухлинами, спричиненими НН і АП, і збільшує цей показник при дії НН.

9. Антагоністичний ефект дії попередників НДМА та радіаційних факторів в зоні аварії на ЧАЕС або модельному γ -опроміненні обумовлений, вірогідно, пригніченням метаболічної активності печінки під дією іонізуючої радіації.

10. Маркерні зміни в організмі щурів під впливом радіації в зоні аварії на ЧАЕС і модельному γ -опроміненні мають однакову направленість, що дозволяє вважати правомірним використання розробленої експериментальної моделі для дослідження комбінованих біологічних ефектів N-нітросполук, їх попередників та радіаційних факторів в зоні аварії на ЧАЕС.

Список наукових робіт, опублікованих за темою дисертації:

1. Галенко П.М., Фурман М.А., Рубенчик В.Л., Михайленко В.М., Индык В.М., Серкиз Я.И. Биохимические изменения в печени, вызванные действием предшественников канцерогенного N-нитроводиметила у крыс, содержащихся в Чернобыле после аварии на АЭС // Эксперим. онкология.-1993.-2, Т.15.-С.19-23.

2. Рубенчик В.Л., Фурман М.А., Михайленко В.М., Галенко П.М., Серкиз Я.И. Влияние нитрита натрия на метаболическую активность и повреждение ДНК печени крыс, находившихся в зоне аварии на Чернобыльской АЭС / Тез. докл. Всес.конф. "Радиобиологические последствия аварии на Чернобыльской АЭС", 30 окт.-1 нояб.- Минск, 1993.- С. 121-122.

3. Галенко П.М., Фурман М.А., Рубенчик В.Л. Сопоставление биохимических изменений в печени при воздействии предшественников канцерогенного N-нитроводиметиламина на крыс, родившихся в Киеве и Чернобыле / Тез. докл. Радиобиол. съезда, 20-25 окт.- Киев, 1993.- С.206.

4. Рубенчик В.Л., Галенко П.М. О комбинированном действии радиации, канцерогенных N-нитросоединений и их предшественников на организм / Тез. докл. Радиобиол. съезда, 20-25 окт.- Киев, 1993.- С.869-870.

5. Галенко П.М. Особенности биологических эффектов при комбинированном действии ионизирующего излучения и N-нитросоединений // Эксперим. онкология.-1994.-3-4, Т.16.-С.289-97.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.00.14-онкология, Ин-т эксперим. патол., онкол. и радиобиол., Киев, 1995.

Защищается рукопись диссертации, содержащей результаты экспериментальных исследований комбинированного действия ионизирующей радиации, НС и их предшественников на некоторые биохимические маркеры в организме крыс. Исследования проведены на крысах, подвергнутых влиянию комплекса радиационных факторов в зоне аварии

ЛНБ ім. В. Стефанива
АН України

на ЧАЭС и на крысах разводки вивария ИЭПОР. Показано, что при введении предшественников НДМА чернoбыльским крысам, генотоксический эффект ниже такового у киевских крыс в среднем в 1,4 раза. При комбинированном действии предшественников НДМА и модельного γ -облучения обнаружен антагонистический эффект этих факторов на повреждение ДНК, обусловленный, вероятно, угнетением метаболической активности печени вследствие облучения. Обнаружена однонаправленность маркерных изменений в организме крыс при действии радиации в зоне аварии на ЧАЭС и модельном облучении. Разработана экспериментальная модель для изучения комбинированного действия НС, их предшественников и радиации в зоне аварии на ЧАЭС.

Galenko P.M. Some biochemical changes in rats by combined administration of N-nitroso compounds, their precursors and ionizing radiation.

Dissertation for candidat of biology degree in speciality 14.00.14.-Oncology, Inst. of Experim. Pathol., Oncol. and Radiobiol., Kiev, 1994.

The manuscript of dissertation is defended containing the results of experimental research of the biochemical changes in rats by combined administration of N-nitroso compounds, their precursors and ionizing radiation. The genotoxic effects (DNA single-strand breaks) after NDMA precursors administration in rats born and kept in Chernobyl Nuclear Plant area were in 1,4-folds low comparing with animals from Kiev area. The combination of NDMA precursors with model γ -irradiation produced the antagonistic effect on DNA damages possible connected with inhibition of liver metabolic activity by radiation. The same direction of marker changes were found under the influence of Chernobyl and γ -irradiation. The experimental model for investigation of combine effects of N-nitroso compounds and their precursors with radioactivity in Chernobyl area was proposed.

Ключові слова: N-нітросполуки, попередники N-нітросполуку, іонізуюча радіація, однострункові розриви ДНК, метаболічна активність печінки.

11707

AB 32.244