

# THE SIGNIFICANCE OF ACCELERATED METHODS IN HYGIENIC ASSESSMENT OF THE ENVIRONMENTAL FACTOR CARCINOGENIC HAZARD

Chernichenko I.O., Balenko N.V., Ostash O.M.

## ЗНАЧЕННЯ ПРИСКОРЕНИХ МЕТОДІВ ДЛЯ ГІГІЄНІЧНОЇ ОЦІНКИ КАНЦЕРОГЕННОЇ НЕБЕЗПЕКИ ФАКТОРІВ ДОВКІЛЛЯ



**ЧЕРНИЧЕНКО І.О.,  
БАЛЕНКО Н.В., ОСТАШ О.М.**

Державна установа "Інститут гігієни та медичної екології ім. О.М. Марзєєва Академії медичних наук України", м. Київ

*ЗНАЧЕНИЕ УСКОРЕННЫХ МЕТОДОВ ДЛЯ ГИГИЕНИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ КАНЦЕРОГЕННОЙ ОПАСНОСТИ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ  
Черниченко И.А., Баленко Н.В., Осташ О.М.  
Приведен краткий анализ существующих ускоренных методов. Обсуждается возможность их использования для оценки канцерогенной опасности химических веществ. Подчеркивается актуальность и необходимость таких исследований для определения тестов, наиболее приемлемых для выявления и гигиенической оценки канцерогенов окружающей среды.*

Найбільш конструктивним шляхом первинної профілактики екологічно залежних форм злоякісних новоутворень є своєчасне виявлення хімічних речовин, яким притаманні канцерогенні властивості, з метою недопущення або обмеження їх надходження у навколишнє середовище та запобігання контакту з ними населення.

Певний час єдиним загальноприйнятим підходом до оцінки канцерогенності хімічних сполук була методична схема, що ґрунтувалася на результатах, отриманих у хронічних дослідках на тваринах, переважно мишах та щурах. Ця система використовувалася і при гігієнічному нормуванні канцерогенів.

Дані таких експериментів були традиційними джерелами для щорічних монографічних публікацій Міжнародного агентства з вивчення раку (МАВР) стосовно оцінки канцерогенної небезпеки хімічних речовин для людини.

Використання традиційних методів досліджень потребувало значного обсягу необхідних досліджень, пов'язаних з трудомісткістю, великими затратами часу та матеріальних ресурсів.

**Мета** даної роботи полягала в аналізі результатів експериментальних даних, висвітлених у літературі щодо прискореного визначення канцерогенної небезпеки факторів довкілля.

Останнім часом, як констатують експерти МАВР, спостерігається збільшення робіт з використанням коротко- та середньострокових моделей, в яких кінцевим критеріальним показником є різні попередники неоплазії [1].

На сьогодні розроблено велику кількість тест-систем із застосуванням різноманітних таксономічних моделей — від примітивних мікроорганізмів

до високоорганізованих ссавців, зокрема гризунів.

Серед методів, що застосовуються, виділяють тест-системи, в яких лімітуючими показниками є індуковані пухлини та передпухлинні утворення; методи, що ґрунтуються на визначенні проявів генотоксичності, а також дослідження з визначення мутацій у специфічних генах людей і тварин як ознак канцерогенних властивостей ксенобіотиків.

Найбільш близькими до класичних вважаються середньострокові моделі визначення канцерогенності на ссавцях з використанням як критеріїв ефектів пухлин та передпухлинних змін. Це давно відомі моделі прискореного індукування пухлин окремих локалізацій шляхом використання чутливих ліній гризунів з відомою онкологічною характеристикою: аденом легенів у мишей лінії А, пухлин шкіри у мишей лінії Sencar тощо.

Сюди також належать моделі одного органу (моноорганні) та багатьох (мультиорганні), в основі яких полягає концепція "ініціація-промоція".

Більшість досліджень моноорганного типу виконано на моделі гепатоканцерогенезу щурів у різних її модифікаціях.

Найбільш відомою є 8-тижнева "Ito-модель" на щурах лінії Fischer-344, в якій ініціатором є N-нітрозодіетиламін (НДЕА) [2].

Крім того, розроблено також прискорені моноорганні моделі для інших органів: легенів, товстої кишки, стравоходу, шлунка, сечового міхура, нирок та простати, підшлункової залози та ін. [2-4]. Моделі пропонуються для визначення можливості індукування органоспецифічних пухлин та передпухлинних утворень в окремих органах, які слугують критеріальними показниками канцерогенних потенцій хімічних

**THE SIGNIFICANCE OF ACCELERATED METHODS IN HYGIENIC ASSESSMENT OF THE ENVIRONMENTAL FACTOR CARCINOGENIC HAZARD**

**Chernichenko I.O., Balenko N.V., Ostash O.M.**

*The brief analysis of the available accelerated methods is presented. Possibility of their using for carcinogenic hazard evaluation of chemicals is discussed. The actuality and necessity of such a research the most suitable for detection and hygienic assessment of the environmental carcinogens are emphasized.*

сполук. Результати можна отримати протягом одного року.

Для визначення канцерогенної активності ксенобіотиків протягом відносно короткого часу одночасно у декількох органах розроблено мультиорганні моделі, які розглянуто у роботі [2]. У якості ініціаторів у цих системах використовують політропний канцероген N-метил-N-нітрососечовину (МНС) або комплекс канцерогенів різної тропності (3 або 5 сполук), після чого вводять досліджувану речовину різними шляхами: інтратрахеально, підшкірно, перорально з їжею чи з водою.

Оцінюючи ці моделі, автори вважають їх придатними для визначення канцерогенної небезпеки для людей, оскільки отримані у них позитивні результати є чітким індикатором потенційної канцерогенності.

Окремої уваги заслуговує новий підхід до визначення канцерогенної небезпеки ксенобіотиків у середні терміни — це використання трансгенних мишей, які є носіями специфічних генів, критичних для розвитку багатьох пухлин [5].

Апробацію моделей на трансгенних мишах було здійснено у декількох лабораторіях [1]. У результаті встановлено їх придатність для ідентифікації канцерогенів і промоторів пухлин. Проте у зв'язку з недостатньою кількістю досліджень на цих моделях нині невідомо, чи можлива ідентифікація агентів, які діють іншими шляхами, відмінними від тих, що змінюють ці трансгени.

Низка методів визначення канцерогенів ґрунтується на дослідженні процесів проліферації і летальності клітин [6]. На сьогодні відомо, що порушення балансу між реплікацією і летальністю, або так званім апоптозом клітин, є одним з критичних моментів у багатостадійному канцерогенезі [6, 7].

Установлено, що хімічні канцерогени здатні підсилювати реплікацію і/або затримувати апоптоз. Підсилення реплікації робить клітини схильними до генетичних змін і сприяє появі ініційованих клітин та їх подальшому клональному росту. І навпаки, завдяки апоптозу здійснюється елімінація ініційованих клітин, що може призводити до гальмування клонального росту.

Таким чином, індукована хімічними сполуками проліферація клітин і їх подальше виживання не обов'язково призводять до розвитку раку, проте можуть бути показником канцерогенного потенціалу. Водночас реверсія фокальних змін після припинення дії хімічних сполук може свідчити про зворотність мітогенної дії агента.

Завершуючи розгляд середньострокових моделей, слід підкреслити узгоджену думку експертів МАВР, які вважають, що всі вони є придатними для визначення та скринінгу канцерогенних хімічних сполук, однак ступінь доказу небезпеки при цьому різний і залежить від конкретних отриманих даних [1].

Важливими перевагами середньострокових біосистем є можливість визначення як ініціюючих, так і промоторних ефектів канцерогенів шляхом використання різної послідовності введення речовин у досліджувані органи, скорочення термінів отримання результатів за суттєвого зменшення обсягів досліджень та їхньої вартості.

Якщо розглядати ці моделі щодо їх використання для гігієнічного нормування канцерогенів навколишнього середовища та оцінки ризику розвитку пухлин у населення від дії реального забруднення, які передбачають отримання кількісної характеристики ефектів з визначенням мінімально ефек-

тивних, середноефективних, та максимально неефективних величин, то вони не можуть бути альтернативою хронічним дослідом. Це пов'язано з тим, що низка особливостей середньострокових дослідів обумовлює відмінність результатів, отриманих за допомогою середньострокових тестів від кінцевого результату у хронічних дослідях, які за сучасного стану знань неможливо прогнозувати.

Тобто нині ще неможливо адаптувати середньострокові моделі для гігієнічного нормування та оцінки ризику від дії реального забруднення на людину. Для вирішення цих питань актуальним і єдино прийнятним, як і раніше, залишається проведення хронічних дослідів, хоча остаточний висновок можливий лише за наявності даних епідеміологічних досліджень.

Недоліком середньострокових тестів є те, що вони не орієнтовані на визначення спонтанного канцерогенезу, що не дозволяє достеменно врахувати увесь спектр канцерогенного ефекту, який включає не лише індукцію пухлин, а й вплив на частоту і латентний період розвитку спонтанних новоутворень.

Одним з напрямків пошуку прискорених і менш витратних методів визначення та скринінгу канцерогенних сполук стала розробка і використання короткострокових біотестів (КСТ) на генотоксичність.

Накопичення даних клінічних спостережень та експериментальних досліджень, які свідчать про важливу роль мутацій у розвитку різних форм раку, сприяло формуванню погляду на КСТ з генотоксичності як на прогностичні показники канцерогенних властивостей і навіть як на можливу альтернативу класичним методам [8, 9].

З понад 100 різних моделей визначення генотоксичності на практиці з цією метою використовуються близько 20 тест-систем [10]. Експерти МАВР виділили три традиційно відомі категорії генетичних КСТ: тести для визначення ушкоджень ДНК та репарації, тести для визначення генних мутацій та тести для виявлення хромосомних ушкоджень [1].

Найбільш ранніми проявами генотоксичності, що передують мутаціям, зокрема мута-

ціям в онкогенах, є аддукти ДНК, тобто хімічні комплекси "ДНК-канцероген". У зв'язку з цим визначення аддуктів ДНК розглядається як один з методів виявлення канцерогенів. Аналіз цих методів наведено у роботі [11].

Аддукти ДНК можуть бути як свідченням впливу канцерогенного агента, так і показником його канцерогенного потенціалу, тобто бластомогенної активності.

Загалом ДНК-аддукти — це результат дії, відмінний від кумулятивного критерію, отриманого шляхом кількісного обліку мутацій.

Значимість досліджень аддуктів для прогнозування канцерогенності речовин обмежується рівнем сучасних знань щодо аддуктів. Адже на сьогодні ще до кінця невідомо, які пошкодження ДНК обов'язково призводять або не призводять до мутації, а тим більше — до прояву канцерогенного ефекту [12-14].

Низка методів реєстрації пошкоджень ДНК базується на оцінці розмірів її фрагментів, що утворюються внаслідок дії ксенобіотиків. Методи характеризуються високою чутливістю, оскільки навіть поодинокі розриви ДНК призводять до утворення двох фрагментів, які різко відрізняються від вихідної молекули за молекулярною масою.

Заслугує на увагу порівняно новий метод виявлення пошкоджень ДНК за допомогою лужного або нейтрального електрофорезу окремих клітин під скороченою назвою метод "ДНК-комет" (Comet-assay), який вважається перспективним і все частіше використовується *in vitro* та *in vivo* у різних країнах [15-17].

Разом з тим нині метод визнається ще недостатньо верифікованим і потребує спеціальних порівняльних досліджень для визначення його переваг і недоліків порівняно з іншими [18]. Відзначається відносно велика вартість таких досліджень [14].

З непрямих методів виявлення ДНК-пошкоджень найчастіше використовується давно відомий метод вивчення позапланового синтезу (ППС) *in vivo*, а також *in vitro* у культурах клітин ссавців. Принцип методу полягає в авторадіографіч-

## КАНЦЕРОГЕННІ ФАКТОРИ ДОВКІЛЛЯ



ній або сцинтиляційній реєстрації мічених основ, зокрема [<sup>3</sup>H]-тимідину, який включається у макромолекули ДНК у процесі репарації пошкоджень, спричинених дією мутагенів [8, 19]. Проте метод нерідко дає хибні позитивні та негативні результати. Тому для оптимізації тесту рекомендується обов'язкове підтвердження відтворенням результатів та дослідженням концентраційної залежності впливу.

Друга категорія генотоксичних методів об'єднує моделі різного таксономічного рівня, які дозволяють визначити генні мутації, спричинені дією ксенобіотиків. Моделі, що не належать до ссавців, включають наперед бактеріальні тести на *Salmonella typhimurium* у різних модифікаціях та *Escherichia coli*, за допомогою яких визначають генетичні ушкодження типу прямих та ревертантних мутацій [1, 20].

Найбільш відомим та поширеним завдяки швидкості отримання відповіді, простоті та доступності є тест Еймса. Метод базується на використанні чутливих His(-) штамів *Salmonella typhimurium* із застосуванням або без системи метаболічної активації. Штами, що використовуються, не синтезують гістидин і при виживанні у безгістидиновому середовищі мутьють зворотно у дикий His(+) штам. Ці реверсії і є показником виникнення генних мутацій.

Водночас висловлюється думка про те, що тест Еймса є доволі грубим і малоприматним для тестування мутагенності, зокрема фармакологічних препаратів [8]. Як аргумент висувається висока біологічна специфічність мікроорганізмів-прокаріотів, що суттєво ускладнює екстраполяцію отримуваних результатів на вищі організми, у т.ч. на людину [8, 10].

З нижчих еукаріотів для реє-

страції генних мутацій використовуються дріжджі та інші гриби, аналіз яких наведено у роботі [21].

Найбільша база даних з генотоксичності ксенобіотиків отримана у досліджах на *Drosophila melanogaster* [1]. Причому домінуюча кількість досліджень (близько 800 речовин) належить до вивчення рецесивних, пов'язаних зі статтю прямих летальних мутацій, значно менша (понад 100 хімічних сполук) і стосується визначення нуклеотидної послідовності хромосомних уламків і реципрокних транслокацій і/або втрат хромосом. Виявлено, що лише 41% з 60 речовин, які індукували пов'язані зі статтю рецесивні летальні мутації, викликали також транслокації.

Вивчення чутливості до виникнення летальних мутацій та транслокацій, втрати хромосом показало, що їх поява залежить від дози мутагена, локалізації та типу алкільючого ефекту [22].

Принципово новим підходом до вивчення індукованих ксенобіотиками генних мутацій вважаються тест-системи з використанням трансгенних тварин, до геному яких інтегровано тестерні гени.

Нині сконструйовано декілька моделей. Зміни у генах, які виявляються за допомогою реєстраційного аналізу, дозволяють оцінювати індукцію генних мутацій ксенобіотиками *in vivo*. Понад 50 хімічних речовин було досліджено з використанням мультиорганних моделей на мишах/щурях "BigBlue TM" з маркерним геном "lac1" та на мишах Muta Mouse з маркерним геном "lacZ" [23].

Перевагою досліджень на моделях lac1, lacZ трансгенних гризунів є можливість вивчення широкого спектру мутацій у різних органах і тканинах шляхом визначення ДНК-послідовностей. Мутаційний спектр за-



безпечує додатковий доказ (за показником специфічних мутацій) мутагенності агента у випадках слабкої загальної реакції, з одного боку, а з іншого — пояснює механізм дії (за показником специфічних ушкоджень ДНК-последовностей).

На сьогодні у зв'язку з незначною кількістю таких досліджень ще невідомо, чи можуть неканцерогенні речовини давати позитивні результати на трансгенних гризунах, що потребує подальшого вивчення.

Експерти МАВР та інші автори вважають, що використання трансгенних тварин як нового підходу з розвитком трансгенних технологій і здешевленням таких тест-об'єктів матиме велике значення для вивчення генних мутацій та виявлення канцерогенів, тим більше, що вони дозволяють визначити тканинну та органну специфічність їхньої дії [1, 8, 23].

Третя категорія КСТ, виділена експертами МАВР, розрахована на дослідження змін (мутацій, аберацій), які можуть викликати утворення канцерогенних сполук у хромосомах.

Сучасні уявлення про механізми виникнення, класифікація хромосомних аберацій та їх ідентифікація детально висвітлені у різних публікаціях [8, 10, 14].

Пошкодження, які виникають за дії канцерогенів-мутагенів на рівні хромосом, кваліфікують як хромосомні, на рівні хроматид — як хроматидні.

За характером ушкоджень розрізняють структурні та числові зміни хромосом.

Установлено, що структурні зміни є результатом помилок репарації ДНК або її реплікації. Агенти, що викликають хромосомні аберації (ушкодження), у сучасній літературі часто іменуються кластогенами.

Числові зміни хромосом пов'язані з помилками сегрегації хромосом, втратою окремих

хромосом внаслідок пошкодження веретена поділу клітини. Хромосоми, що "запізнилися", та їхні фрагменти, які не потрапили у дочірні ядра, формують мікроядра (МЯ). Речовини, які викликають ушкодження веретена поділу, дістали назву анеугенних, тобто таких, які індукують анеуплоїдію, що означає появу некротного гаплоїдного (тобто одинарного) набору хромосом.

Для виявлення хромосомних змін найчастіше використовують метод мікроскопічного обліку хромосомних аберацій у метафазних клітинах проліферуючих тканин, обліку обміну сестринських хроматид *in vitro* та *in vivo*, а також метод реестрації МЯ переважно *in vivo* тощо [1, 10]. Застосування рутинних та диференціальних методів фарбування метафазних пластинок дозволяє реєструвати різні хромосомні пошкодження.

Більшість цитогенетичних методів використовується давно, і їх значимість для ідентифікації мутагенів та канцерогенів постійно обговорюється у літературі [1, 8, 10, 14, 18].

Більш детального розгляду заслуговує тест на МЯ, який з часу першого застосування значно удосконалено і тепер вважається перспективним та знаходить широке застосування.

Мікроядра — це аналогічні клітинному ядру додаткові маленькі хроматинові тільця у цитоплазмі неушкоджених клітин. Механізм появи МЯ полягає у тому, що мутагени індукують розриви хромосом з утворенням їхніх фрагментів, які в інтерфазній клітині формують самостійні дуже маленькі ядра. МЯ можуть утворюватись також у результаті спричиненого дією мутагена пошкодження веретена поділу клітини, внаслідок чого частина хромосом не включається до складу основного ядра клітини і формує додаткове маленьке ядро.

Серед цитогенетичних тестів тільки МЯ тест дозволяє аналізувати інтерфазні пошкодження клітин, а не у період їх поділу, тобто оцінювати незворотні пошкодження, що накопичуються і виявляються після мітозу.

Ще у 1920-х роках за часів Радянського Союзу особлива увага приділялася поглибленому вивченню та розробці МЯ тесту [14, 24-27].

На думку авторів [14], низка переваг МЯ тесту над іншими цитогенетичними методами дає можливість більш коректно виявляти потенційні канцерогени. Метод є технічно простішим і потребує менше часу для одержання даних; дозволяє використовувати тварин, задіяних у звичайному токсикологічному досліді, і може застосовуватися для виявлення ефекту паралельно у різних органах тих саме тварин. Крім того, МЯ тест дозволяє диференціювати дію кластогенів і анеугенів. Останні є отрутою для "веретена поділу", пошкодження якого має значення не лише на стадії ініціації, а й активації та прогресії. Важливіми перевагами є органоспецифічність та залежність ефекту від дози.

Таким чином, з наведеного огляду можна бачити, що різноманітні КСТ на генотоксичність залежно від того, якій стадії канцерогенезу вони відповідають, неспроможні або дозволяють з різним ступенем вірогідності прогнозувати канцерогенність, активність та механізми дії ксенобіотиків.

Слід зазначити, що нині серед фахівців домінує думка про необхідність використання генотоксичних тестів як обов'язкових компонентів складних тест-систем або так званих "батареї" для ідентифікації та скринінгу канцерогенів, що дає можливість прискорити та здешевити ці дослідження.

З генотоксичних тестів все більше застосування у гігієнічних дослідженнях знаходить МЯ тест. Крім визначення мутагенів у досліді на тваринах, МЯ тест використовується у комплексних дослідженнях оцінки стану здоров'я населення та стану навколишнього середовища і його безпеки для населення за показником сумарної мутагенної активності [28-30]. Зарубіжні автори застосовують цей тест також у молекулярній епідеміології як біомаркер ефекту у комплексі з іншими показниками при дослідженні груп ризику серед професійних контингентів, що зазнають впливу різних рівнів канцерогенів (ПАР, БП, бензолу, бітумних випарів тощо) в умовах виробництва, а також серед населення забруднених територій [18, 31, 32].

В Україні МЯ-тест знайшов своє застосування у комплексі з іншими біоіндикаційними показниками для визначення токсиколого-мутагенного впливу антропогенних чинників на екологічний стан окремих територій та його оцінки з метою розробки заходів оздоровлення [33].

Особливу увагу експерти МАВР приділяють розгляду мутацій у специфічних генах пухлин людей і експериментальних тварин для оцінки їх як показника дії канцерогенів навколишнього середовища [1].

На сьогодні відомо, що у геномі не лише вірусів, а й інших живих організмів, у т.ч. ссавців і людей, існують певні нуклеотидні послідовності, або так звані протоонкогени, експресія яких є достатньою для підтримки ракового фенотипу ініційованих клітин.

Активация протоонкогенів відбувається внаслідок мутацій, зокрема індукованих канцерогенами, а їхні активовані гомологи дістали назву онкогенів.

Згідно з сучасними уявленнями більшість пухлин розвивається через низку послідовних змін генетичного та епігенетичного характеру, що включає клональну селекцію, набуття геномної нестабільності та клітинну трансформацію.

Через гетерогенність людської популяції, яка значною мірою визначає різноманітність мутацій, для вивчення зв'язку різних типів мутацій у пухлинах з діючими канцерогенними агентами використовуються інбредні, генетично гомогенні популяції експериментальних тварин з відомим сталим характером мутацій певних генів.

Встановлено, що 80% онкогенів, що містяться у зразках препаратів ДНК, отриманих із пухлин експериментальних тварин і людей, становлять гени, які за принципом близькості у точній нуклеотидній послідовності належать до сімейства *ras*.

Дія канцерогенів може спричинити якісні зміни мутацій, спектр яких відрізняється від того, що реєструється у спонтанних пухлинах, і кількісні, які проявляються збільшенням або зменшенням частоти фракцій пухлин з *ras*-мутаціями.

Нині типи та частота мутацій *ras*-генів у "природних" пухлинах охарактеризовані з високим ступенем прогнозування, що забезпечило базу для порівняння їх у пухлинах аналогічного типу, індукованих канцерогенами. Зміна частоти фракцій пухлин з *ras*-мутаціями, порівняно з аналогічними пухлинами у тварин, що не піддаються дії агента (контроль), вказує на зв'язок ефекту з дією фактора [34].

Інформація про наявність інших генів (*neu*, *raf*, *ret*,  $P^{53}$ , *aps* тощо) та їхні мутації у спонтанних і індукованих пухлинах тварин надто обмежена, що, на думку експертів, не дозволяє оцінити їх придатність для індикації канцерогенів і потребує подальших досліджень [34].

Важливим підходом до оцінки канцерогенної небезпеки факторів навколишнього середовища, причетних до виникнення пухлин, є дослідження специфічних генів та їхніх мутацій у пухлинах людини. При розвитку раку у людини задіяно багато генів. Разом з тим, на цей час є незначна кількість доказів відносно мутацій, індукованих канцерогенними факторами довкілля, і стосуються вони переважно генів *ras*,  $P^{53}$  для невеликої кількості типів раку людини.

На сьогодні дослідження мутацій у специфічних генах пухлин людей і експериментальних тварин як метод ідентифікації канцерогенів довкілля мають обмежене застосування. Це зумовлено, з одного боку, недостатністю або відсутністю бази даних про мутації у пухлинах різних локалізацій у мишей, відсутністю таких даних для щурів. З іншого боку, ще мало доказів зв'язку мутацій окремих генів у пухлинах людей з дією канцерогенів через складність проведення таких досліджень серед населення внаслідок його генетичної гетерогенності та через дію на нього складного комплексу хімічних сполук.

Подальший розвиток досліджень потребує вирішення двох питань: створення бази даних про зв'язок типів мутацій з індивідуальними історіями, включаючи детальну специфічну інформацію щодо дії факторів; здійснення широкомасштабних молекулярних епідеміологічних досліджень генів і

їхніх мутацій, пов'язаних з раком, генної чутливості тощо, які характеризують популяцію. Такі дослідження можливі лише за наявності дешевих швидких методів аналізу мутацій і вимагають імплементації прийнятих етичних підходів.

Останнім часом у літературі обговорюється питання щодо можливості використання для детекції канцерогенів комплексу імунологічних показників, які розглядаються, з одного боку, як ендogenous фактор високого ризику раку, а з іншого — як індикатор забруднення довкілля канцерогенами [35, 36].

Дискутується також питання щодо застосування методів визначення вільнорадикальних процесів у поєднанні з показниками стану антиоксидантної системи організму для ідентифікації та оцінки небезпеки канцерогенів і мутагенів [37-39].

Отже, наведені дані свідчать, що пошук короткотермінових методів виявлення канцерогенів і їх гігієнічної оцінки, альтернативних хронічним дослідом, на сьогодні продовжує залишатися актуальним.

Одним з підходів у вирішенні цього питання, на нашу думку, можуть бути паралельні дослідження в експерименті комплексу поєднаних показників стану різних захисних систем організму (імунологічної, антиоксидантної, неспецифічної резистентності тощо) та проявів канцерогенезу (генотоксичні ушкодження, процеси проліферації і апоптозу, морфологічні еквіваленти різних стадій канцерогенезу тощо), які відбуваються в організмі одночасно.

Експериментальні дослідження такого напрямку вже розпочато нами. Результати досліджень будуть викладені на сторінках журналу з їх отриманням.

## ЛИТЕРАТУРА

1. McGregor D.B. The Use of Short — and Medium-term Tests for Carcinogens and Data on Genetic Effects in carcinogenic Hazard Evaluation / McGregor D.B., Rice J.M., Venitt S. — Lyon: IARC, 1999. — 536 p.
2. Shirai T. Medium-term bioassays in rats for rapid detection of the carcinogenic potential of the chemicals / T. Shirai, M. Hirose, N. Ito // The Use of Short- and Medium-term Tests for Carcinogens and Data on genetic Effects in carcinogenic Hazard Evaluation. — 1999. — P. 251-273.
3. Tsuda H. Short- and medium-term carcinogenicity tests: Simple initiation-promotion assay systems / H. Tsuda, C.B. Park., M.A. Moore // The Use of Short- and Medium-term Tests for Carcinogens and Data on genetic Effects in carcinogenic Hazard Evaluation. — 1999. — P. 203-251.
4. Williams G. Chemical carcinogen mechanisms of action and implications for testing methodology / G. Williams // Exp. Toxicol. Pathol. — 1996. — № 48. — P. 101-111.
5. Genetically altered mouse models for identifying carcinogens / R.W. Tennant, S. Stasiwicz, I. Mennear et al. // The Use of Short- and Medium-term Tests for Carcinogens and Data on genetic Effects in carcinogenic Hazard Evaluation. — 1999. — P. 123-151.
6. Schulte-Hermann R. Apoptosis in the Liver and its role in hepatocarcinogenesis / R. Schulte-Hermann, W. Bursch, Low-Basellia // Cell. Biol. Toxicol. — 1997. — V. 13. — P. 339-48.
7. Фильченков А.А. Современные представления о роли апоптоза в опухолевом росте и его значении для противоопухолевой терапии / А.А. Фильченков // Эксп. онкол. — 1998. — Т. 20, № 3-4. — С. 259-270.
8. Дурнев А.Д., Середин С.Б. Мутагены (скрининг и фармакологическая профилактика воздействий). — М.: Медицина, 1998. — 328 с.
9. Waters M.D. Short-term tests for defining mutagenic carcinogens / M.D. Waters, H.F. Stack, M.A. Jackson // The Use of Short and Medium-term Tests for Carcinogens and Data on genetic Effects in carcinogenic Hazard Evaluation. — 1999. — P. 499-514.
10. Руководство по краткосрочным тестам для выявления мутагенных и канцерогенных химических веществ // Гигиенические критерии состояния окружающей среды № 51. — Женева: ВОЗ, 1989. — 112 с.
11. Shuker D.E.G. DNA adducts in mammalian cells as indicators of exposure to carcinogens / D.E.G. Shuker // The Use of Short- and Medium-term Tests for Carcinogens and Data on genetic Effects in carcinogenic Hazard Evaluation. — 1999. — P. 287-309.
12. Современные представления о механизмах канцерогенеза / Н.П. Напалков, В.Н. Анисимов, П.Г. Князев и др. // Общая онкология. — 1989. — С. 28-52.
13. Гигиенические критерии состояния окружающей среды
155. Биомаркеры и оценка риска: концепции и принципы. — Женева: ВОЗ, 1996. — 95 с.
14. Новый подход к диагностике мутагенных и канцерогенных свойств окружающей среды / Л.П. Сычева, В.С. Журков, Ю.А. Рахманин и др. // Гиена. и сан. — 2003. — № 6. — С. 87-91.
15. Hovhannisyan G. Evaluation of cisplatin-DNA crosslinks formation with UV-C application by alkaline comet-assay / G. Hovhannisyan, T.S. Harounyan, R.M. Azutyunyan // Эксп. онкол. — 2004. — Т. 2, № 3. — С. 240-242.
16. Buschini A. Comet essay and micronucleus test in circulating erythrocytes of cyprinus carpio specimens exposed in situ to lake water treated with disinfectants for potabilization / A. Buschini // Mutat. Res. — 2004. — P. 119-29.
17. Brambilla. Failure of the standard battery of short-term tests in detecting some rodent and human genotoxic carcinogens / Brambilla // Toxicology. — 2004.
18. Sram R.J. Molecular Epidemiology Studies on Occupational and Environmental Exposure to Mutagens and Carcinogens, 1997-1999 / R. Sram, B. Binkova // Environ. Health Perspect. — 2000. — V. 103. — P. 57-70.
19. McGregor D. DNA damage and repair in mammalian cells in vitro and in vivo as indicators of exposure to carcinogens / D. McGregor, D. Anderson // The Use of Short- and Medium-term Tests for Carcinogens and Data on genetic Effects in carcinogenic Hazard Evaluation. — 1999. — P. 309-355.
20. Quillardet P. Identification of carcinogenic substances by means of short-term tests in bacteria / P. Quillardet, D. McGregor // The Use of Short and Medium-term Tests for Carcinogens and Data on genetic Effects in carcinogenic Hazard Evaluation. — 1999. — P. 487-499.
21. Parry J.M. Use of tests in yeasts and fungi in the detection and evaluation of carcinogens / J.M. Parry // The Use of Short- and Medium-term Tests for Carcinogens and Data on genetic Effects in carcinogenic Hazard Evaluation. — 1999. — P. 471-487.
22. Vogel E.M. The results of assays in Drosophila as indicators of exposure to carcinogens / E.M. Vogel // Item. — P. 427-471.
23. Schmezer P. Induction of mutations in transgenic animal models: BigBlue TM and Muta Mouse / P. Schmezer, C. Eckert // Item. — 2000. — P. 355-367.
24. Саламатова О.Г. Исследование генотоксической активности нитрозодиэтиламина микроядерным методом в разных органах крыс / О. Саламатова, Л. Сычева // Гиг. и сан. — 1992. — № 3. — С. 72-73.
25. Органная специфичность цитогенетического действия 1,2-диметилгидразина / В.С. Журков, Л.П. Сычева, О.Г. Саламатова и др. // Гиг. и сан. — 1993. — № 9. — С. 42-44.
26. Сычева Л.П. Применение микроядерных тестов для выявления мутагенов и канцерогенов / Л. Сычева, В. Журков // Вестник Рос. АМН. — 1997. — № 7. — С. 14-18.
27. Оценка мутагенной активности факторов окружающей среды в клетках разных органов млекопитающих микроядерным методом. — М.: Межведомственный науч. совет по экологии человека и гигиене окружающей среды РФ, 2001. — 21 с.
28. Рахманин Ю.А. Донозологическая диагностика в проблеме окружающая среда — здоровье населения. (Методические рекомендации) / Рахманин Ю.А., Ревазова Ю.А. // Гиг. и сан. — 2004. — № 6. — С. 3-5.
29. Применение морфофункциональных и цитогенетических исследований при анализе воздействия факторов окружающей среды / Н.Н. Беляева, Л.П. Сычева, М.А. Коваленко и др. — Гиг. и сан. — 2007. — № 5. — С. 63-65.
30. Эффективность биотестирования как экспрессного метода оценки опасности загрязнения окружающей среды



для здоровья человека / К.П. Селянкина, Е.А. Борзунова, С.П. Сайченко и др. // Гиг. и сан. — 2007. — № 3. — С. 30-32.

31. Mechanisms of carcinogenesis: contributions of molecular epidemiology / P. Buffler (ed.) (IARC Scientific Publications № 157). — Lyon: IARC, 2004. — 450 p.

32. Effects of environmental benzene: micronucleus frequencies and haematological values in traffic police working in an urban area / F. Maffei, P. Hrelia, S. Angelini et al. // Mutat. Res. Genet. Toxicol. and Environ. Mutagen. — 2005. — V. 583, № 1. — P. 1-11.

33. Обстеження та районування території за ступенем впливу антропогенних чинників на стан об'єктів довкілля з використанням цитогенетичних методів. (Методичні рекомендації). — Дніпропетровськ: НГУ: Мін. освіти і науки України, 2007. — 25 с.

34. Mutations in ras genes in experimental tumours of rodents / R.C. Sills, G.A. Boorman, J.E. Neal et al. // The Use of Short- and Medium-term Tests for Carcinogens and Data on genetic Effects in carcinogenic Hazard Evaluation. — 1999. — P. 55-87.

35. Risk Assessment in Immunotoxicology / M.I. Juster, C. Portier, G. Pait et al. // Fundam. and Appl. Toxicol. — 1992. — V. 18. — P. 2-200.

36. Moncevicute-Eringiene E. Disturbances of immunohomeostasis as endogenous risk factors of cancer and other diseases and indicators of environmental contamination / Moncevicute-Eringiene E. // Vežio profilaktikos problemos. — Lietuvos mokslas, 2001. — P. 88-122.

37. Campanella L. Analytical chemical considerations on tumor genesis / L. Campanella // Экспер. онкология. — 2007. — № 23. — С. 76-77.

38. Разработка подходов к использованию показателей оксидантного равновесия организма для оценки рисков здоровью от загрязнений атмосферного воздуха / Л.В. Хрипач, Т.Д. Князева, Н.С. Скворцова и др. // Гиг. и сан. — 2006. — № 5. — С. 37-41.

39. Gričiute L. Review of research on cancer prevention at the Institute of Oncology, Vilnius University / L. Gričiute, S. Uleckiene // Acta medica Lituanica. — 2007. — V. 14, № 3. — P. 146-148.

Надійшло до редакції 02.10.08.

## A QUESTION ON THE FORMING OF DNA-CONTENT VIRUSES MATURE STATE IN MALIGNANT TUMORS

Jagofarova M.G., Evtushenko A.I., Balenko N.V.

## К ВОПРОСУ ОБРАЗОВАНИЯ ЗРЕЛОЙ ФОРМЫ ДНК-СОДЕРЖАЩИХ ВИРУСОВ В ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯХ



**ЯГОФАРОВА М.Г.,  
ЕВТУШЕНКО А.И.,  
БАЛЕНКО Н.В.**

Государственное учреждение  
"Институт гигиены  
и медицинской экологии  
им. А.Н. Марзеева  
АМН Украины",  
г. Киев

*ДО ПИТАННЯ УТВОРЕННЯ  
ЗРІЛОЇ ФОРМИ ДНК-ВМІСНИХ  
ВИРУСІВ У ЗЛОЯКІСНИХ  
НОВОУТВОРЕННЯХ  
Ягофарова М.Г.,  
Євтушенко А.І.,  
Баленко Н.В.*

*Висловлюється гіпотеза щодо  
ролі ДНК-вмісних  
герпесвірусів у розвитку  
зляжкісних пухлин людини.  
Висунуто припущення, що  
віруси можна виділити із  
пухлин за умов, коли вони  
утворюють продуктивну форму  
і залишають пухлинні клітини.  
На думку авторів, продуктивні  
форми герпесвірусів  
утворюються у зляжкісних  
пухлинах за таких умов: у  
живому організмі онкохворих у  
клітинах поверхневих шарів  
епітеліальних пухлин, що  
закономірно гинуть (апоптоз),  
і/або у клітинах епітеліальних  
та неепітеліальних пухлин, що  
гинуть внаслідок смерті  
онкологічного хворого.  
Наведено результати  
особистих досліджень та дані  
літератури, що підтверджують  
ці припущення.*

огласно современным представлениям рак — это полиэтиологическое заболевание [1]. Твердо установлено, что злокачественные опухоли могут вызываться химическими, физическими и биологическими агентами. К числу последних относятся также опухолеродные вирусы.

Сторонники вирусной теории считают, что вирусы ассоциированы этиологически с развитием большинства опухолей [2].

На сегодня доказано, что действительно ряд опухолей как у животных, так и у человека связан с действием вируса [1]. Среди вирусов опухолей человека идентифицированы ДНК-содержащие вирусы из группы паповавирусов — вирусы папилломы и кондиломы слизистых оболочек ано-генитальной области, вирусы рака шейки матки, рака влагалища и penis; ДНК-содержащий вирус Эпштейна-Барра из группы герпесвирусов, ассоциированный с лимфомой Беркитта, неходжкинскими лимфомами, болезнью Ходжкинса и раком носоглотки; вирусы гепатитов человека — ДНК-содержащий вирус гепатита В и РНК-содержащий вирус гепатита С, которые могут вызывать опухоли печени.

К РНК-содержащим вирусам (ретровирусам) человека относятся Т-клеточный лимфотропный вирус человека, связанный с возникновением лейкозов, лимфом; два типа вирусов иммунодефицита человека (ВИЧ-1; ВИЧ-2), связанные с синдромом приобретенного иммунодефицита и развитием саркомы Капоши, неходжкинских лимфом.

Вопрос о возможной связи вирусов с развитием других форм и локализаций опухолей до сих пор остается невыясненным.

В качестве одного из аргументов невирусной этиологии