

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE ENDOGENOUS SYNTHESIS OF CARCINOGENIC NITROSAMINES DEPENDING ON THE DESIGN OF THE EXPERIMENT

Chernychenko I.O., Balenko N.V., Sovertkova L.S., Lytvychenko O.M.

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЕНДОГЕННОГО СИНТЕЗУ КАНЦЕРОГЕННИХ НІТРОЗАМІНІВ ЗАЛЕЖНО ВІД ДИЗАЙНУ ЕКСПЕРИМЕНТУ

C

**ЧЕРНИЧЕНКО І.О.,
БАЛЕНКО Н.В.,
СОВЕРТКОВА Л.С.,
ЛИТВИЧЕНКО О.М.**

ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. О.М. Марзеєва НАМН України», м. Київ

УДК 615.277.3 : 504.75

Ключові слова:
нітрозодиметиламін,
нітрозодіетиламін,
ендогенний синтез,
попередники синтезу,
канцерогенний ефект.

еред чинників, що зумовлюють зростання захворюваності населення на злоякісні новоутворення, важливу роль відіграє забруднення об'єктів довкілля хімічними сполуками антропогенного походження (у тому числі канцерогенними речовинами) і продуктами трансформації. Серед останніх провідну роль відіграють канцерогенні сполуки класу нітрозамінів (НА), які здатні легко утворюватись із широко розповсюджених азотовмісних попередників (нітратів/нітритів, амінів/амідів тощо) не тільки екзогенно в оточуючому середовищі (повітря, ґрунт), а й ендогенно у живих організмів та системах (в організмі людей, тварин чи рослин). Експерти МАВР визнають НА як сполуки, ймовірно, канцерогенні для людини (група 2А) [1].

Мета роботи – визначення особливостей ендогенного синтезу канцерогенних НА залежно від умов проведення експерименту за результатами особистих досліджень.

Матеріали та методи. Дослідження проведено на білих аутбредних щурах у 3 серіях дослідів, які відрізнялися за дизайном, тобто обраними для введення попередниками НА (ПНА), їх дозами чи концентраціями, шляхами впливу та тривалістю експерименту загалом. Вибір доз ґрунтувався на реальних рівнях попередників НА у середовищі життєдіяльності людини. Тварини були придбані у розпліднику АОЗТ «Фенікс», м. Київ.

Рівень ендогенного синтезованих НА (ЕНА) в органах експериментальних тварин визначали шляхом вимірювання вмісту НА

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНДОГЕННОГО СИНТЕЗА КАНЦЕРОГЕННЫХ НИТРОЗАМИНОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДИЗАЙНА ЭКСПЕРИМЕНТА
Черниченко И.А., Баленко Н.В., Соверткова Л.С., Литвиченко О.Н.
ГУ «Институт общественного здоровья им. А.Н. Марзеева НАМН Украины» г. Киев

Цель работы – определить особенности эндогенного синтеза канцерогенных нитрозаминов (НА) в зависимости от условий проведения эксперимента по данным собственных исследований.

Материалы и методы. Исследования проведены на белых аутбредных крысах в 3 сериях опытов, которые отличаются использованными для введения предшественниками синтеза нитрозаминов (ПНА), их дозами (концентрациями), путями, продолжительностью введения и длительностью опытов. Дозы ПНА выбраны с учетом реальных уровней их в окружающей среде.

Уровень эндогенно синтезированных НА (ЭНА) – нитрозодиметиламина и нитрозодидетиламина – в органах экспериментальных животных определяли газохроматографическим методом.

Опасность НА оценивали по показателям развития опухолей (частота, злокачественность, морфогенез, локализация, латентный период и др.), установленным при патоморфологических исследованиях. Полученные цифровые данные обрабатывали общепринятыми в медико-биологических исследованиях методами с использованием критерия Стьюдента, а также χ^2 Пирсона.

Результаты исследований. Во всех опытах при введении животным комплексов разных ПНА

в органах (печень, почки, легкие) спустя 7 часов от начала введения ПНА отмечено наличие ЭНА. Количество их в органах увеличивалось до определенного уровня, затем было примерно одинаковым несмотря на продолжение введения ПНА. После прекращения введения ПНА в органах ЭНА не выявлялись. В хронических опытах отмечено дозозависимое развитие опухолей разных органов. В опыте с введением оксидов азота (ингаляционно), нитрита натрия в комплексе с амидопирином (перорально) определяющую нитрозирующую роль сыграл диоксид азота. По сравнению с этим опытом в опытах, где животным вводили тетрациклин с нитритом натрия перорально, интенсивность эндогенного синтеза и содержание ЭНА в органах были ниже, в легких они не определялись.

Выводы. В эксперименте на белых аутбредных крысах доказан эндогенный синтез НА, уровень и интенсивность образования которых зависят от химической структуры, дозы и путей поступления предшественников их синтеза; показано отсутствие материальной кумуляции канцерогенов в органах при одновременном накоплении функционально-структурных изменений в организме, приводящих к развитию опухолей. Доказано, что частота, морфология, генез и локализация индуцированных опухолей определяются токсико-фармакологическими особенностями предшественников и количеством эндогенно синтезированных нитрозаминов.

Ключевые слова: нитрозодиметиламин, нитрозодидетиламин, эндогенный синтез, предшественники синтеза, канцерогенный эффект.

© Черниченко І.О., Баленко Н.В., Соверткова Л.С., Литвиченко О.М. СТАТТЯ, 2017.

№ 2 2017 ENVIRONMENT & HEALTH 8

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE ENDOGENOUS SYNTHESIS OF CARCINOGENIC NITROSAMINES DEPENDING ON THE DESIGN OF THE EXPERIMENT

Chernychenko I.O., Balenko N.V., Sovertkova L.S., Lytvychenko O.M.

SI "O.M. Marzeyev Institute for Public Health, National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv, Ukraine

Objective. We determined the peculiarities of the endogenous synthesis of carcinogenic nitrosamines (NA) depending on the conditions of the experiment according to the data of our own research.

Materials and methods. The studies were carried out on white outbred rats in 3 series of the experiments with different doses (concentrations) used for the administration of precursors of nitrosamine synthesis (PNA), routes, duration of administration and duration of the experiments. Doses of PNA were chosen taking into account their real levels in the environment. The level of endogenously synthesized HA (ENA) – nitrosodimethylamine and nitrosodiethylamine in the organs of the experimental animals was determined by the gas chromatography method. The risk of HA was assessed by the indicators of tumor development (frequency, malignancy, morphogenesis, localization, latent period, etc.) established in pathomorphological studies. The obtained digital data were processed by the methods accepted in biomedical studies using the Student's test and also Pirson's χ^2 .

Results. In all experiments at the introduction of the complexes of different PNA the presence of ENA in the organs (liver, kidneys, lungs) was noted in 7 hours

after the start of the PNA administration. Their number in the organs increased to a certain level and then was approximately the same despite the continuation of the PNA introduction. After the termination of the PNA administration the ENA were not detected in the organs. In chronic experiments, a dose-dependent development of tumors of different organs was noted. Nitrogen dioxide played a decisive nitrosating role in the experiment with the introduction of nitrogen oxides (inhalation), sodium nitrite in a complex with amidopirin (orally). In comparison with this experiment, in the experiments where the animals were orally administrated tetracycline with sodium nitrite, the intensity of endogenous synthesis and the content of ENA in the organs were lower, they were not determined in the lungs.

Conclusions. Endogenous synthesis of HA was proved in the experiment on white outbred rats, HA level and intensity of the formation depended on chemical structure, dose and pathways of the precursors of their synthesis. There was no material cumulation of carcinogens in organs at the simultaneous accumulation of functional-and-structural changes in the organism leading to the development of tumors. Frequency, morphology, genesis, and localization of induced tumors were proved to be determined by the toxico-pharmacological features of the precursors and the number of endogenously synthesized nitrosamines.

Keywords: nitrosodimethylamine, nitrosodiethylamine, endogenous synthesis, precursors of synthesis, carcinogenic effect.

(нітрозодиметиламіну /НДМА/ та нітрозодіетиламіну /НДЕА/) в органах тварин з застосуванням методу газової хроматографії («Спосіб визначення канцерогенних N-нітросамінів у біологічному матеріалі»: Пат. № 71255 від 10.07.2012 р.). Для одного зразка брали органи 5-7 тварин. Небезпеку ЕНА оцінювали за показниками, що характеризують розвиток новоутворень (частота, латентний період і ступінь злоякісності виявлених пухлин, їхня локалізація, морфологія та генез), для чого проводили патоморфологічні дослідження. Уражені пухлинами органи та тканини фіксували у 10% водному розчині нейтрального формаліну. У подальшому для виготовлення гістологічних препаратів органи заливали парафіном після відповідної обробки методами традиційної патогістологічної техніки. Гістологічні зрізи фарбували гематоксилін-еозином, вибірково – пікрофуксином за методом Ван Гізона і досліджували мікроскопічно. При верифікації пухлин керувалися відповідними рекомендаціями [2, 3].

Отримані цифрові дані опрацьовували звичайними методами з використанням критерію Ст'юдента, а також критерію χ^2 Пірсона [4].

Результати досліджень. У першій серії в умовах хронічного експерименту використано 450 щурів, розподілених на 7 груп, у тому числі інтактний контроль (1 група); дві групи, що отримували роздільно інгаляції діоксиду азоту (NO_2) на рівні ГДК ($0,04 \text{ мг/м}^3$) (2 група) чи амідопірин (АП) перорально з кормом (3 група); 4, 5, 6 групи, що отримували одночасно інгаляції NO_2 у концентраціях на рівні 1, 10, 20 ГДК ($0,04; 0,4; 0,8 \text{ мг/м}^3$) та АП в однакових дозах. Щури 7 групи отримували додатково до комплексу NO_2 на рівні 20 ГДК з АП ще один нітрозуючий компонент – нітрит натрію (НН) з водою.

Введення шурам ПНА здійснювали протягом 10 місяців. За цей час тварини отримували на день у середньому по $20,2 \text{ мг/кг}$ ваги тіла АП та $13,4 \text{ мг/кг}$ НН.

Для індикації та підтвердження ЕНА визначали вміст НДМА та НДЕА у внутрішніх органах (печінці, легенях, нирках) щурів 7 групи та групи інтактного контролю на 15 та 30 добу від початку затруєння та 30 добу після його припинення. Для дослідження НА в органах використано по 48 тварин із цих груп. Решта щурів перебувала під наглядом протягом життя до природної смерті для

реєстрації розвитку пухлин.

При вивченні вмісту НА в усі терміни в органах інтактних тварин встановлено їх відсутність чи наявність на межі визначення тільки в окремих зразках печінки.

При цьому значно більші концентрації ЕНА реєструвалися у щурів 7 групи. Зокрема, кількість НДМА у печінці, легенях та нирках складала, відповідно, $7,1 \pm 0,3$; $8,0 \pm 0,4$; $12,5 \pm 1,2 \text{ мкг/кг}$. Вміст НДЕА був дещо нижчим і становив $3,5 \pm 0,4$; $4,0 \pm 0,6$; $6,2 \pm 0,4 \text{ мкг/кг}$ відповідно.

Протягом усього терміну експерименту рівні канцерогенів в органах, досягли максимальних величин у перші дні, зберігалися, а при припиненні надходження ПНА вже на 30-ту добу знижувалися до фонових значень. Це, з одного боку, свідчить про те, що поява НА в органах тварин пов'язана з надходженням їхніх попередників (NO_2 , НН, АП), з іншого – вказує на відсутність матеріальної кумуляції ЕНА.

Тривалі спостереження за тваринами показали, що віддаленими наслідками надходження ПНА є пухлини, які мали чіткий дозо-ефектний характер прояву, як свідчать дані таблиці. Цей факт підтверджує, що незважаючи на відсутність

матеріальної кумуляції ЕНА в організмі тварин відбувається накопичування функціонально-структурних змін, які врешті-решт призводять до розвитку пухлин.

Розвиток пухлин спостерігався в усіх групах. Причому у щурів інтактного контролю (1 група) та тих, що отримували інгаляцію NO₂ на рівні ГДК (2 група), пухлини виникли у поодиноких випадках у легенях, молочній залозі та шкірі і за частотою (5,0-5,3%) та часом розвитку не відрізнялися від спонтанних, які, згідно з даними літератури та особистих досліджень, спостерігаються у щурів, за виключенням пухлин шкіри [2, 5]. Частота останніх перевищувала спонтанний рівень в історичному контролі (0,16-0,20%) [2, 5], що, ймовірно, пов'язано з високою генетичною чутливістю використаного в експерименті розплоду щурів до пухлин цієї локалізації. Сумарна частота виникнення пухлин у щурів цих груп була найменшою і становила 15,8% та 15,0% відповідно.

Водночас у тварин, що отримували комплекс попередників, спостерігалось достовірне

порівняно з інтактним контролем збільшення сумарної частоти пухлин у міру зростання концентрацій NO₂ до 10-20 ГДК, а також при введенні додаткового нітрозуючого компонента – НН. Так, за комбінованої дії АП, НН та NO₂ на рівнях 10-20 ГДК (5, 6, 7 групи) частота пухлин становила 48,0%, 57,1%, 60,0% відповідно.

Суттєвою особливістю канцерогенезу у щурів 5-7 груп є достовірне збільшення частки характерних для дії гепатотропних канцерогенів НДМА та НДЕА пухлин печінки, які також мали місце у поодиноких випадках при роздільному введенні АП (3 група) чи сумісному з дією NO₂ на рівні ГДК (4 група), але не спостерігалися у тварин інтактного контролю (1 група) та при роздільній інгаляції NO₂ на рівні ГДК (2 група).

Частота ураження пухлинами печінки у 5-7 групах становила відповідно 24,0%, 28,5%, 28,0% порівняно з 8,3% і 3,4% у щурів 3 та 4 груп.

Посилення канцерогенезу у печінці проявилось також почастішанням метастазування внутрішньоорганно (вростання у

судини) та у віддалені органи (легені), одночасним ураженням пухлинами різного генезу і ступеня злоякісності (аденома, холангіома, гепатоцелюлярний рак, гемангіосаркома). Крім того, відзначено тенденцію до скорочення латентного періоду пухлин, у тому числі злоякісних. Середній латентний період виникнення пухлин печінки у тварин 5, 6, 7 груп становив 877,1; 785,5; 827, 7 днів, злоякісних – 956,0; 900,5 та 783,3 днів відповідно. При цьому додаткове введення щурам НН не вплинуло на частоту ураження пухлинами печінки, однак дещо прискорило їхню малігнізацію.

Зростання канцерогенного ефекту відбулося і за рахунок збільшення частоти пухлин окремих позапечінкових локалізацій (легені, молочна залоза) та розширення спектра уражених первинними пухлинами органів. Останні включали шлунок, товстий кишечник, нирки, наднирники, шкіру та системні ураження гематопоетичного походження (мієлоз, ретикулосаркоматоз). Незважаючи на те, що ці новоутворення виникли у поодиноких випадках, їхній сумарний вне-

Таблиця

Частота розвитку пухлин у білих безпородних щурів після хронічного введення їм попередників канцерогенних нітрозамінів

| Група | Досліджувані речовини | Доза денна NO ₂ , мг/мх ³ АП, НН мг/кг | ефективних* | Кількість тварин | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------|-----------------------------|--------------------------------------------------------------|-------------|------------------|------|----------------|-------|---------|------|----------------|-------|---------------|------|----------------|-------|------------------|------|----------------|-------|
| | | | | з пухлинами | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | печінки | | | | легенів | | | | інших органів | | | | загалом | | | |
| | | | | абс. | % | χ ² | р | абс. | % | χ ² | р | абс. | % | χ ² | р | абс. | % | χ ² | р |
| 1 | - | - | 19 | 0 | 0 | 0 | - | 1 | 5,3 | - | - | 3 | 15,8 | - | - | 3 ¹⁾ | 15,8 | | |
| 2 | NO ₂ | 0,04 | 20 | 0 | 0 | 0 | - | 1 | 5,0 | 0,01 | >0,05 | 2 | 10,0 | 0,29 | >0,05 | 3 | 15,0 | 0,01 | >0,05 |
| 3 | АП | 20,2 | 24 | 2 | 8,3 | 1,75 | >0,05 | 2 | 8,3 | 0,19 | >0,05 | 3 | 12,5 | 0,07 | >0,05 | 4 ²⁾ | 16,6 | 0,02 | >0,05 |
| 4 | NO ₂ АП | 0,04 20,2 | 29 | 1 | 3,4 | 0,67 | | 3 | 10,3 | 0,39 | >0,05 | 3 | 10,3 | 0,31 | >0,05 | 5 ³⁾ | 17,2 | 0,02 | >0,05 |
| 5 | NO ₂ АП | 0,4 20,2 | 25 | 6 | 24,0 | 5,28 | <0,05 | 4 | 16,0 | 1,24 | >0,05 | 5 | 20,0 | 0,13 | >0,05 | 12 ⁴⁾ | 48,0 | 4,98 | <0,05 |
| 6 | NO ₂ АП | 0,8 20,2 | 28 | 8 | 28,5 | 6,54 | <0,05 | 5 | 17,9 | 1,61 | >0,05 | 8 | 28,6 | 1,03 | >0,05 | 16 ⁵⁾ | 57,1 | 8,04 | <0,05 |
| 7 | NO ₂ АП НН | 0,8 20,2 13,4 | 25 | 7 | 28,0 | 6,33 | <0,05 | 4 | 16,0 | 1,24 | >0,05 | 7 | 28,0 | 0,91 | >0,05 | 15 ⁶⁾ | 60,0 | 8,72 | <0,05 |

Примітки:

1) – в 1 щура подвійна локалізація (ретикулосаркома легенів + фіброаденома молочної залози);

2) – в 1 щура множинна локалізація (ретикулосаркома легенів, гепатома, папілома передшлунка, аденокарцинома молочної залози);

3) – в 1 щура множинна локалізація (ретикулосаркома легенів, аденома привушної залози, фіброаденома молочної залози);

4) – у 3 щурів подвійна локалізація (гепатома + аденома молочної залози, гепатома + адено-

карцинома легенів, аденома нирки + фібросаркома середостіння);

5) – у 4 тварин множинна локалізація (ретикулосаркома легенів + залозистий поліп шлунка + аденокарцинома молочної залози, у 2 – гепатоцелюлярний рак печінки та аденокарцинома молочної залози);

6) – ретикулосаркома легенів + аденома молочної залози, гепатоцелюлярний рак + аденокарцинома молочної залози, лейкоз + мезенхіома очеревини

* / – кількість тварин, що дожили до появи 1 пухлини.

сок у 5-7 групах становив від 20,0% до 28,0%.

Домінуючими серед пухлин позапечінкової локалізації були ураження легенів, частота яких у різних групах становила від 10,3% до 17,9% і була вищою, ніж у щурів інтактного контролю (5,3%). Морфологічно переважали ретикулосаркоми легенів. При цьому середній латентний період свідчив про тенденцію до скорочення, найбільш виразне у щурів 6 групи (577 днів) порівняно з інтактним контролем (843 дні). Крім ретикулосарком, у легенях відзначено поодинокі випадки аденокарциноми, плоскоклітинної епітеліоми, гемангіосаркоми.

Ще одним проявом активації канцерогенезу було збільшення частоти полінеоплазій, тобто синхронного ураження різних органів первинними пухлинами, а також одночасного виникнення пухлин різного генезу в одному і тому ж органі (легені, печінка).

Зіставлення локалізації та динаміки виникнення пухлин за часом у різних групах показує, що за дії нижчих доз ПНА, які відповідають меншій кількості синтезованих в організмі НА, канцерогенез переважно проявляється стимуляцією (збільшенням частоти) спонтанних форм пухлин, які зазвичай спостерігаються у щурів. Збільшення рівнів надходження попередників та відповідних їм ЕНА супроводжується ще більшою стимуляцією, яка проявляється не тільки зростанням частоти, а й зменшенням латентного періоду спонтанних новоутворень та дозозалежним виникненням характерних для НА пухлин печінки, розширенням спектра уражених пухлинами органів та зростанням частоти полінеоплазій.

Як можна бачити з отриманих результатів, додаткове введення щурам 7 групи НН як нітрозуючого компонента суттєво не вплинуло на частоту індукованих пухлин порівняно з дією бінарного комплексу ПНА (NO_2 та АП), отриманого щурами 6 групи, що свідчить про визначальну нітрозуючу роль діоксиду азоту у канцерогенезі та ендогенному синтезі.

Другу серію досліджень проведено в умовах гострого дослідження на 120 щурах, розподілених на 5 груп, які отримували інший комплекс ПНА: тетрациклін (ТЦ) як сполуку, що ніт-

розується і містить аміногрупи, та НН як нітрозуючий компонент. Речовини вводили протягом одного місяця перорально з кормом (ТЦ) та водою (НН).

Дози попередників визначали з урахуванням теоретично можливого навантаження на організм через добовий раціон, що включає харчові продукти та питну воду. До уваги брали можливе максимальне і мінімальне надходження нітрозуючих сполук з рослинною продукцією. У різні терміни дослідження (за 6-7 годин, на 15 та 30 добу від початку введення попередників, а також на 14 добу після його припинення) у печінці, нирках та легенях тварин різних груп визначали НДМА як показник ендогенного синтезу НА.

В органах щурів інтактного контролю, які не отримували ці сполуки, вміст НДМА був на межі визначення. У тварин, що отримували комплекс попередників (2, 3, 4 групи), як і у попередній серії, вже за 6-7 годин від початку затруєння канцероген виявлено у внутрішніх органах, зокрема у тканинах печінки $0,72 \pm 0,01$; $0,13 \pm 0,02$; $0,10 \pm 0,01$ мкг/кг та нирках $0,94 \pm 0,01$; $0,24 \pm 0,01$; $0,17 \pm 0,01$ мкг/кг відповідно.

При дослідженні на 15 добу кількість канцерогена визначалася на рівнях $1,05 \pm 0,04$; $0,20 \pm 0,01$; $0,10 \pm 0,02$ мкг/кг у печінці та $1,12 \pm 0,04$; $0,29 \pm 0,01$; $0,14 \pm 0,02$ мкг/кг у нирках відповідно.

На 30 добу введення у печінці виявлено $0,98 \pm 0,04$; $0,21 \pm 0,02$; $0,10 \pm 0,02$ мкг/кг канцерогена, у нирках – $1,06 \pm 0,03$; $0,27 \pm 0,01$; $0,15 \pm 0,02$ мкг/кг відповідно. При дослідженні легенів НДМА не виявлено, що узгоджується з повідомленнями інших авторів, які пояснюють це леткістю канцерогена та його елімінацією з легенів через видихання з повітрям [6].

У щурів 5 групи, що отримували мінімальні дози попередників (ТЦ 100 мг/кг, НН 20 мг/кг), вміст НДМА в органах взагалі не відрізнявся від цього показника в інтактному контролі. Дослідження органів за 14 діб після припинення введення ТЦ та НН показали, що вміст НДМА незалежно від введеної дози був на рівні аналогічних показників у тварин контрольної групи.

Отже, виявлені відмінності вмісту НДМА у різних органах

тварин різних груп протягом експерименту, по-перше, підтвердили, що поява НДМА є результатом ендогенного синтезу із введених ТЦ та НН, а їхня кількість залежить від введених доз цих сполук. По-друге, тривале надходження попередників не призводить до накопичення канцерогена в органах незважаючи на продовження надходження попередників та більшу сумарну дозу, яку отримали тварини.

Зіставлення даних щодо ендогенного синтезу, отриманих нами в обох серіях дослідів в одній і тій же терміні спостереження (на 15 та 30 добу від початку введення ПНА), свідчить про більш інтенсивний синтез і, відповідно, значно вищі показники вмісту НДМА у печінці та нирках тварин, а також наявність канцерогена у легенях за перорального введення АП та НН одночасно з інгаляцією NO_2 порівняно з пероральним введенням ТЦ та НН навіть у високих дозах. Цей факт, на нашу думку, можна пояснити двома факторами. По-перше, більш активним нітрозванням амінів АП порівняно з ТЦ, що пов'язано з хімічною структурою цих сполук. По-друге, здатністю NO_2 як нітрозуючого компонента нітрузувати аміни за нейтральних значень рН, що створює умови для ендогенного синтезу у різних органах (у т.ч. легенях). У результаті зростає сумарний вихід ЕНА, які надходять до кров'яного руслу і потрапляють у більшість до органів, що здійснюють метаболізм (печінка) та виділення із організму (нирки, легені).

У випадку перорального введення ТЦ у комплексі з НН ендогенний синтез обмежується тільки шлунком, оскільки взаємодія нітритів з амінами відбувається у кислому середовищі за низьких значень рН. Крім того, у зв'язку з бактерицидною властивістю ТЦ із процесу ендогенного синтезу виключається мікрофлора ротової порожнини і кишечника, яка здійснює відновлення нітратів, утворених у процесі метаболізму введених нітритів, і сприяє додатковому утворенню ЕНА. Через зазначені причини утворюється менша кількість ЕНА, чим і пояснюється відсутність їх у легенях і менший рівень у печінці та нирках щурів у другій серії дослідів.

Третю серію, аналогічно другій, проведено з застосуванням перорального шляху введення тих самих попередників (ТЦ, НН). Відмінність полягала у використанні відносно низьких доз, але більш тривалому введенні (протягом 14 міс.) та продовженні спостережень за тваринами після припинення введення речовин до появи пухлин. Загальна тривалість експерименту становила 23 місяці.

Загалом в експерименті було задіяно 226 тварин, розподілених на 7 груп: інтактний контроль (1 група); групи тварин, що отримували роздільно НН у дозах 20 мг/кг (група 2А) та 50 мг/кг (група 2Б) чи ТЦ у дозі 20 мг/кг (група 3); тварини 4, 5, 6 груп отримували комплекс попередників – ТЦ в однаковій дозі 20 мг/кг одночасно з НН у дозах 20, 50, 100 мг/кг відповідно.

Вивчення вмісту НА (НДМА та НДЕА), з урахуванням даних попередньої серії досліджень (відсутність цих сполук у легенях), проводили лише у печінці та нирках. Отримані результати підтвердили встановлені раніше закономірності дозо-часових залежностей вмісту ЕНА в органах (печінці та нирках), кількість яких, з певним коливанням, протягом 11 місяців від початку експерименту була на одному рівні у тварин у межах кожної групи. Однак спостерігалася тенденція до зростання кількісних показників, яка чітко проявлялася зі збільшенням дози ПНА.

Порівняння цих показників у різні терміни дослідження свідчить про те, що кількість НА у тварин окремих груп зростає протягом деякого періоду зі збільшенням тривалості введення ПНА, а при досягненні певної величини незважаючи на продовження надходження попередників суттєво не відрізняється. Умови даного експерименту і терміни визначення вмісту НА в органах найбільш показово підтверджують відсутність накопичення канцерогенів в органах незалежно від продовження введення попередників і збільшення їх сумарного надходження.

Загалом порівняльний аналіз ендogenous синтезу у трьох серіях дослідів дозволяє говорити про провідну роль у цьому процесі нітрозуючої сполуки. У 1-й серії це можна бачити на прикладі NO_2 , при збільшенні

концентрації якого зростає інтенсивність ендogenous синтезу, що підтверджує дозозалежний розвиток пухлин. На користь цього свідчать дані 2-ї та 3-ї серій досліджень: зростання вмісту ЕНА в органах тварин 3-ї серії та розвиток пухлин при збільшенні співвідношення у комплексі «ТЦ + НН» у бік НН (у 6 групі співвідношення ТЦ : НН становило 1 : 2,5, у 7 групі – 1 : 5) і відсутність ЕНА в органах тварин 5 групи 2-ї серії, які отримали комплекс «ТЦ + НН» у зворотному співвідношенні – ТЦ : НН було як 5 : 1.

Ендogenous утворення НА та їх потенційну небезпеку також підтвердили результати тривалого спостереження за тваринами, в яких зареєстровано розвиток пухлин, хоча інтенсивність канцерогенезу під час введення ТЦ та НН була суттєво нижчою порівняно з 1-ю серією, коли в якості попередників використовували АП та NO_2 , і проявилася переважно стимуляцією спонтанних форм пухлин – ретикулосарком легенів. Частота останніх була вищою порівняно з інтактним контролем у 3-ї серії: на 690-й день дослідження виявлено один випадок (8,3%) пухлинного ураження легенів (ретикулосаркому). Розвиток ретикулосарком легенів відзначено й у поодиноких щурів, яким вводили окремо ТЦ (в 1 з 11 тварин) чи НН у дозі 50 мг/кг (в 1 з 13 тварин) та 100 мг/кг (в 1 з 15 тварин), частота яких становила 9,0%, 7,7% та 6,6% випадків відповідно.

Найбільша частота ураження пухлинами (8 з 11 щурів, тобто 72,3% випадків) спостерігалася у тварин 6 групи при надходженні ПНА у максимальних дозах – ТЦ 20 мг/кг і НН 100 мг/кг.

Перша пухлина виявлена на 365-й день від початку експерименту у печінці і являла собою ретикулосаркому з численними метастазами в очеревину порожнини живота та брижу кишечника.

Решта пухлин (63,6% випадків) виникла у легенях на 441-700-й день від початку дослідження, їх було діагностовано як ретикулосаркоми. Пухлини локалізувалися у прикорневій зоні легенів, проростали у середостіння, метастазували внутрішньо-органно або у черевну порожнину (у 3 щурів), що свідчило про їхній злоякісний перебіг.

В одиничному випадку відзначено синхронний розвиток

ретикулосаркоми і гемангіосаркоми легенів та саркоми тимусу. Середній латентний період розвитку пухлин у щурів цієї групи становив 423,3 днів.

Серед тварин, що отримували ТЦ 20 мг/кг з меншою дозою НН (50 мг/кг), пухлини виникли у 2 з 15 досліджених щурів (13,2%) на 588-й та 700-й день дослідження. В обох випадках новоутворення локалізувалися у легенях і за морфо-гістологічною структурою були ретикулосаркомами.

У групі тварин, що отримали ТЦ з найменшою дозою НН (20 мг/кг), пухлини виявлено в 1 з 12 щурів (8,3% випадків).

Отже, отримані результати патоморфологічних змін у внутрішніх органах тварин демонструють однакоvu залежність вмісту НА в органах і розвитку пухлин від рівнів введених попередників, вказуючи, що вони є наслідком ендogenous синтезу. Збільшення дози попередників супроводжується збільшенням вмісту НА в органах, що відображає інтенсифікацію синтезу канцерогенних НА в організмі та призводить до наступної активації канцерогенезу. Останнє проявляється почастищенням розвитку пухлин, у тому числі різного генезу і локалізації, а також проявів злості і тенденцією до зменшення латентного періоду.

Висновки

1. Встановлено, що у тварин, які отримували комплекс попередників, ендogenous синтезовані НА реєструвалися в організмі протягом усього періоду затруєння, починаючи з 7 годин після початку їх введення. Показано відсутність матеріальної кумуляції їх в органах за одночасного накопичення функціонально-структурних змін в організмі, що призводять до розвитку пухлин.

2. Доведено, що рівень та інтенсивність утворення ЕНА залежать від хімічної структури, дози та шляхів надходження попередників. Токсико-фармакологічні особливості попередників синтезу та кількісний вміст ендogenous канцерогенів впливають на частоту, морфологію, генез та локалізацію індукованих пухлин.

3. Показано, що комплексне надходження азотовмісних сполук до організму (з повітрям, питною водою та харчовими продуктами) є джерелом

ендогенного синтезу НА і може впливати на формування канцерогенного навантаження на людину.

4. Отримані результати можуть стати підґрунтям для наукового обґрунтування шляхів попередження онкологічних захворювань населення.

ЛІТЕРАТУРА

1. IARC Monographs of the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Vol. 1-100. Lyon : IARC, 1972-2011.

2. Turusov V.S., Mohr U. (eds.) Pathology of Tumours in Laboratory Animals. P.1. Tumours in the Rat. Lyon : JARC, 1990. 225 p.

3. Турусов В.С. Номенклатура и гистологическая классификация опухолей лабораторных крыс. *Экспериментальная онкология*. 1992. № 2. С. 8-13.

4. Антомонов М.Ю. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных. К., 2006. 558 с.

5. Сердюк А.М., Янышева Н.Я., Черниченко И.А., Баленко Н.В. Закономерности модифицирующего влияния химических факторов окружающей среды на канцерогенез. *Довкілля та здоров'я*. 1997. № 2. С. 18-22.

6. N-Nitrosodimethylamine. Concise International Chemical Assessment Document 38. Geneva : IOMC, WHO, 2002. 45 p.

REFERENCES

1. IARC Monographs of the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Vol. 1-100. Lyon : IARC; 1972-2011.

2. Turusov V.S. and Mohr U. (eds.) Pathology of Tumours in Laboratory Animals. P.1. Tumours in the Rat. Lyon : JARC; 1990 : 225 p.

3. Turusov V.S. *Experimental Oncology*. 1992 ; : 8-13 (in Russian).

4. Antomonov M.Yu. Matematicheskaja obrabotka i analiz mediko-biologicheskikh danykh [Mathematical Processing and Analysis of Medico-Biological Data]. Kiev ; 2006 : 558 p. (in Russian).

5. Serdiuk A.M., Yanyшева N.Ya., Chernichenko I.A. and Balenko N.V. *Dovkillia ta zdorovia*. 1997; 2 : 18-22 (in Russian).

6. N-Nitrosodimethylamine. Concise International Chemical Assessment Document 38. Geneva : IOMC, WHO; 2002 : 45 p.

Надійшла до редакції 14.01.2017

INFLUENCE OF THE MAGNETIC FIELD OF INDUSTRIAL FREQUENCY ON THE STATE OF PROOXIDANT-ANTIOXIDANT INDICATORS IN THE ORGANISM OF EXPERIMENTAL ANIMALS

Didyk N.V.

ВПЛИВ МАГНІТНОГО ПОЛЯ ПРОМИСЛОВОЇ ЧАСТОТИ НА СТАН ПРООКСИДАНТНИХ ТА АНТИОКСИДАНТНИХ ПОКАЗНИКІВ В ОРГАНІЗМІ ПІДДОСЛІДНИХ ТВАРИН



ДІДИК Н.В.

ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. О.М. Марзєєва НАМН України», м. Київ

УДК 613.648.2 : 612.:57.081.2

Ключові слова:
магнітне поле промислової частоти (50 Гц), перекисне окислення ліпідів, антиоксидантна система.

однією з важливих еколого-гігієнічних проблем є проблема електромагнітної безпеки. Велика кількість і різноманіття високовольтних ліній електропередачі, що нині перебувають в експлуатації в енергетичній системі України, створюють значне техногенне навантаження на навколишнє середовище у вигляді електромагнітних полів (ЕМП) промислової частоти (50-60 Гц) і являють небезпеку для здоров'я населення [1-3]. Наукові дані підтверджують високий ризик впливу на здоров'я магнітного поля (МП 50 Гц). Проявом біологічної дії МП може бути ефект метаболічних порушень, таких як окисно-відновні процеси.

Клінічними дослідженнями показано вплив МП на ЦНС, серцево-судинну, ендокринну системи: вплив на умовні та

ВЛИЯНИЕ МАГНИТНОГО ПОЛЯ ПРОМЫШЛЕННОЙ ЧАСТОТЫ НА СОСТОЯНИЕ ПРООКСИДАНТНЫХ И АНТИОКСИДАНТНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ОРГАНИЗМЕ ПОДОПЫТНЫХ ЖИВОТНЫХ

Дидык Н.В.

ГУ «Институт общественного здоровья им. А.Н. Марзеева НАМН Украины», г. Киев

Целью работы было исследование про- и антиоксидантных показателей в крови и тканях органов подопытных животных при воздействии магнитного поля (50 Гц) различных уровней интенсивности.

Материалы и методы исследования: исследование влияния магнитного поля частотой 50 Гц (10, 30 и 90 мкТл) проводилось в эксперименте на белых крысах линии Wistar с использованием биохимических методов определения содержания малонового диальдегида и каталазы в крови.

Результаты. Полученными результатами установлено накопление МДА-продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Повышение активности каталазы как фермента антиокислительной системы защиты было недостаточным для инактивации ПОЛ. Отмеченные нарушения зависели от уровня интенсивности и времени действия МП 50 Гц.

Выводы. Под влиянием магнитного поля происходит интенсификация процессов перекисного окисления липидов в органах и крови крыс и сопровождается активацией каталазы. Это может свидетельствовать о некоторой разбалансированности про- и антиоксидантных процессов, поскольку индукция свободнорадикальных процессов не уравновешена антиоксидантной системой защиты.

Ключевые слова: магнитное поле промышленной частоты (50 Гц), перекисное окисление липидов, антиоксидантная система.

© Дідик Н.В. СТАТТЯ, 2017.