

Профилактика радиационного канцерогенеза у крыс с помощью производного оксипиридинов – глутапирона

Л.П. Вартанян¹, Е.В. Иванов¹, А.Б. Маркочев¹, Э.А. Бисениекс², С.Ф. Вершинина¹, Г.Ф. Горнаева¹, Ю.И. Пустовалов¹, Т.В. Пономарева³

¹ ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий МЗСР России», Санкт-Петербург

² Латвийский институт органического синтеза, г. Рига

³ ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт радиационной гигиены имени профессора П.В. Рамзаева», Санкт-Петербург

В опыте на 290 крысах линии Вистар, подвергнутых хроническому гамма-облучению в дозе 10 Гр, показано, что назначение животным с питьевой водой препарата из класса дигидропиридинов глутапирона в течение 6 мес. снижает выход злокачественных новообразований с 26,5% в контроле до 13% в опыте. У облученных крыс, получавших глутапирон, были диагностированы только соединительнотканые опухоли, у контрольных животных – также и опухоли эпителиального и лимфоидного происхождения. Анतिकанцерогенная активность глутапирона и его низкая токсичность свидетельствуют о возможности практического применения препарата для профилактики радиационного канцерогенеза.

Ключевые слова: хроническое гамма-облучение крыс, антиканцерогенное действие, глутапирон.

Введение

При длительном воздействии на организм человека ионизирующей радиации на первый план выходит риск возникновения в отдаленные сроки различного рода новообразований [1, 2]. Актуальность данной проблемы ставит перед радиобиологией задачу разработки лекарственных препаратов, обладающих антибластомогенными свойствами. Экспериментальные исследования по лучевому канцерогенезу, особенно по канцерогенному влиянию длительного облучения с малой мощностью дозы, немногочисленны и не дают ответа на множество вопросов, в том числе и касающихся предупреждения возникновения опухолей. Анализ литературы показывает, что основной поток научных исследований до недавнего времени был направлен на поиск радиозащитных препаратов неотложного действия, предназначенных в основном для индивидуальной защиты и лечения пострадавших в аварийных ситуациях [3]. В то же время постоянно констатируется необходимость разработки препаратов для профилактики отдаленных последствий облучения и выдвигается масса предположений об их составе и свойствах, которые должны привести к антиканцерогенному эффекту [4, 6].

Таким образом, изучаемая проблема остается в ряду задач первостепенной важности и нуждается в дальнейших исследованиях. Изучение патогенеза лучевых поражений, особенно при пролонгированном лучевом воздействии, указывает на интенсификацию в организме процессов окисления липидов, в результате которых появляются токсические продукты, нарушаются структура и функция клеточных мембран. В норме образующиеся активные метаболиты инактивируются эндогенными антиоксидантами, уровень которых играет существенную роль в определении резистентности организма к воздействию неблагоприятных химических и физических факторов, а

использование препаратов с антиоксидантными свойствами повышает сопротивляемость организма, уменьшает риск появления опухолевых заболеваний [4–8].

Цель исследования – изучение в качестве антиканцерогенного агента при многократном использовании синтетического препарата из класса диоксипиридинов – глутапирона, обладающего выраженными антирадикальными и антиоксидантными свойствами [9].

Материалы и методы

Опыты проведены на 290 белых крысах линии Вистар, самках массой 180–210 г трехмесячного возраста. Животные были разделены на четыре группы: биологический контроль (n=70), облученные крысы (n=80), облученные крысы, получавшие глутапирон (n=70) и животные, получавшие только глутапирон (n=70). Все животные групп «облучение» подвергались хроническому (в течение 31 суток) гамма-облучению на специальной установке «Гаммарид» (Россия) в суммарной дозе 10 Гр. Облучение велось из двух источников ⁶⁰Со, направленных навстречу друг другу. Стеллажи с клетками для животных располагались перпендикулярно оси, соединяющей источники, на расстоянии 2 м от источников. Мощность поглощенной дозы в центре крысы составляла 0,0000037 Гр/с. Ежедневно на 15 минут аппарат отключался для того, чтобы покормить животных и дать им препарат. Крысы получали глутапирон с питьевой водой из расчета 30 мг/кг в течение 2 месяцев (включая период хронического лучевого воздействия). В каждой клетке содержалось по 5 крыс, которым на 1 сутки ставилась поилка с 75 мл питьевой воды, в которой было растворено 50 мг глутапирона. Одна крыса выпивала в среднем 9 мл раствора. В последующие 4 месяца препарат давался в дозе 10 мг/кг (в 90 мл воды растворялось 20 мг препарата). На всем протяжении экс-

перимента за животными велось ежедневное наблюдение, проводился учет количества выпитой жидкости с препаратом, животных регулярно взвешивали. Погибших крыс подвергали патолого-анатомическому вскрытию. Органы животных, включая новообразования, фиксировались 10% нейтральным формалином, заливались в парафин. Срезы окрашивались гематоксилин-эозином. Опухоли погибших животных подвергали гистологической верификации. Срок наблюдения за животными составил 24 мес. Материал обработан статистически по методу Фишера – Стьюдента.

Результаты и обсуждение

По истечении двухлетнего срока наблюдения все облученные животные погибли, из необлученных крыс в биоконтроле выжили 7%, в группе с глутапироном – 31%. Это различие по выживаемости свидетельствует о безвредности препарата и, возможно, о повышении резистентности животных к различным интеркуррентным заболеваниям. Никаких проявлений интоксикации у крыс отмечено не было. Введение глутапирина не оказало существенного влияния на изменение массы тела у облученных животных. В то же время введение препарата intactным крысам привело к достоверному по сравнению с биоконтролем увеличению массы тела ($P < 0,05$) примерно на 20–25% в течение всего срока наблюдения. Из приведенных данных следует, что прием глутапирина оказывает благоприятное влияние на жизнеспособность животных, повышая их сопротивляемость к неблагоприятным факторам.

Проведенное облучение крыс в суммарной дозе 10 Гр привело к развитию хронической лучевой болезни, которая обусловила сокращение продолжительности жизни и способствовала более ранней гибели облученных животных по сравнению с необлученными. В то же время достоверных различий по этим показателям между лечеными и нелечеными животными не наблюдалось.

Основными причинами гибели животных, помимо злокачественных опухолей, были пневмонии, энтерит и абсцессы мягких тканей. Под влиянием лучевого воздействия в отдаленные сроки (независимо от приема препарата) наблюдались изменения в паренхиме легких, выражающиеся в различной степени инфарктирования, что, возможно, было связано с повышением сосудистой проницаемости. Для легких этих животных было характерно наличие перибронхиальных и периваскулярных кровоизлияний, чередование очагов эмфиземы и ателектаза с присоединением интерстициальной пневмонии или панбронхита. У животных биологического контроля и в группе крыс, получавших только препарат, не было зафиксировано случаев инфарктирования легких. Основными причинами гибели у этих животных были пневмонии и энтериты.

Полученные данные позволяют провести анализ канцерогенного действия облучения и антиканцерогенного эффекта глутапирина. На рисунке представлена динамика развития всех новообразований за 2 года эксперимента.



Рис. Динамика развития новообразований у животных за 2 года эксперимента

Как видно из рисунка, развитие опухолей у облученных животных началось значительно раньше, чем у необлученных. При этом максимум развития опухолей наблюдался через 11–12 мес. после облучения. У большинства животных, получавших глутапирон, такого резкого подъема в развитии новообразований не наблюдалось, а их число оставалось на более низком уровне, чем у облученных крыс. У необлученных животных число новообразований стало возрастать к концу второго года наблюдений, причем в количественном отношении выход опухолей у необлученных животных через 2 года наблюдений практически сравнялся. При сравнении числа опухолей в группе животных, получавших препарат, с показателями спонтанного канцерогенеза у крыс биоконтроля наши данные позволяют говорить об отсутствии у глутапирана канцерогенного действия.

В таблице приведены количественные данные по влиянию глутапирана на развитие доброкачественных и злокачественных новообразований у облученных крыс.

Заключение

Таким образом, результаты проведенного исследования показали, что хроническое воздействие гамма-излучения (10 Гр в течение 31 суток) индуцировало у подопытных крыс возникновение большого количества новообразований различного гистогенеза. Назначение крысам с питьевой водой глутапирана оказало антиканцерогенное действие, которое выражалось в уменьшении выхода как доброкачественных, так и злокачественных опухолей. Наряду с этим, у облученных животных, получавших препарат, имело место сужение спектра возникших новообразований по сравнению с животными группы облученного контроля: у леченых крыс были найдены только соединительнотканые опухоли, тогда как у животных облученного контроля обнаружены новообразования и другого гистогенеза – эпителиальные и лимфоидные.

Таблица

Влияние глутапирана на развитие новообразований у крыс при хроническом облучении в дозе 10 Гр (срок наблюдения 24 месяца)

Действующие факторы	Общее число опухолей	Число опухолей разного типа				Число опухолей, приходящихся на 1 крысу из эффективного числа
		Доброкачественные		Злокачественные		
		Абсолютное	%	Абсолютное	%	
γ-облучение	49	36	73,5±7,4	13	26,5±6,3	0,64±0,05
γ-облучение +глутапирон	23	20	87,0±7,5	3	13,0±7,0*	0,37±0,06*

Опухоли различного генеза у животных с множественными опухолями рассматриваются в качестве самостоятельных нозологических единиц.

* – различия с облученным контролем статистически достоверны.

Из таблицы видно, что суммарное число новообразований у животных облученного контроля оказалось примерно в 2 раза больше, чем у облученных крыс, получавших глутапирон. Результаты эксперимента еще более убедительны при сопоставлении двух сравниваемых групп по критерию выхода злокачественных новообразований: у леченых глутапироном животных их доля среди всех опухолей в 2 раза меньше (13% – у леченых, 26% – у нелеченых). Следовательно, на одно животное из эффективного числа крыс приходится почти в 1,7 раза меньше опухолей, чем в облученном контроле. В результате гистологической верификации было установлено, что у необлученных животных большинство новообразований составляли опухоли молочных желез.

Сходная картина наблюдалась у облученных животных, получавших глутапирон (75% составляют опухоли молочных желез), тогда как у контрольных облученных крыс 40% опухолей имеют иную природу и локализацию. Доброкачественные опухоли были представлены в основном фиброаденомами молочных желез. Бластомогенное действие хронического лучевого воздействия характеризовалось довольно широким спектром возникших опухолей: регистрировались эпителиальные, соединительнотканые и лимфоидные злокачественные новообразования. В то же время введение глутапирана облученным животным имело следствием интересный феномен – ограничение по гистогенезу спектра радиогенных опухолей: у крыс этой группы новообразования были представлены только соединительноткаными опухолями, тогда как лимфоидные и эпителиальные злокачественные новообразования совсем не встречались.

Результаты опытов подтверждают полученные нами ранее данные об антиканцерогенной противорадиационной активности производных диоксипиридина [9, 10] и подтверждают мнение о перспективности практического использования соединений пиридинового ряда, известных антиоксидантной активностью [11] и другими биологическими свойствами [12, 13]. Необходимо констатировать также низкую токсичность глутапирана и его благоприятное воздействие на жизнеспособность животных, сопротивляемость к инфекционным и другим патогенным факторам. Совокупность этих фактов может свидетельствовать об адаптогенных свойствах глутапирана. Вся сумма приведенных факторов свидетельствует о выраженных антиканцерогенных свойствах глутапирана и о целесообразности практического применения данного лекарственного препарата.

Литература

1. Alexandrov, S.N. Late radiation pathology of mammals / S.N. Alexandrov. – Berlin Akademie Verlag, 1982. – 156 p.
2. Иванов, Е.В. Медицинские последствия Чернобыльской аварии. Факты и размышления 15 лет спустя / Е.В. Иванов, В.М Шубик. – СПб.: НИИ радиационной гигиены МЗ РФ, 2001. – С. 58.
3. Врачебное дело / Э.А. Нечаев, Е.Г. Жилиев, Ю.А. Абдуль. – 1992. – Т. 4, № 6. – С. 50–52.
4. Шубик, В.М. Иммуитет и здоровье после радиационных аварий и экологических катастроф / В.М. Шубик. – СПб., 2001. – С. 223.

5. Greenwald, P. / P. Greenwald, W.F. Malone, V.E. Cerny, H.R. Stern // Adv. Cancer Res. – 1993. – № 61. – P.123.
6. Principles of Chemoprevention / Eds B.W. Stewart, D. McGregor, P. Kleihues // IARS Sci Publ. – 1996. – № 139. – P. 175.
7. Худолей, В.В. Теоретические основы направленного поиска ингибиторов химического канцерогенеза / В.В. Худолей [и др.] // Вопросы онкологии. – 1996. – Т. 49, № 5. – С. 113–117
8. Худолей, В.В. Канцерогены: характеристики, закономерности, механизмы действия / В.В. Худолей. – СПб.: НИИ химии СПбГУ, 1999. – 419 с.
9. Ivanov, E.V. Preventive anticarcinogenic treatment using antioxidant immunoprotective preparations / E.V. Ivanov [et al.] // Inf. Conf. One decade after Chernobl. – 1996. – P. 1–3.
10. Вартанян, Л.П. [и др.] // 1-й Национальный конгресс по профилактической медицине. – СПб., 1994. – Т. 1. – С. 255.
11. Влияние антиоксидантов из класса 3-оксипиридина на активность фосфодиэстеразы циклического 3,5-аденозинфосфата / Л.Д. Смирнов [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1983. – Т. 96, № 9. – С. 40–43.
12. Зидермане, А.А. [и др.] // Известия Академии наук Латвийской ССР. – 1971. – Т. 285, № 4. – С.77–83.
13. Производные 1,4-дигидроизоникотиновой кислоты (1,4-ДГИНК) – ингибиторы химического мутагенеза / Р.И. Гончарова [и др.] // Вестник РАМН. – 1995. – № 1. – С. 9–20.

L.P. Vartanyan¹, E.V. Ivanov¹, A.B. Marcochev¹, E.A. Bisenieks², S.F. Vershinina¹, G.F. Gornaeva¹, Yu.I. Pustovalov¹, T.V. Ponomareva³

Prevention of radiation carcinogenesis in rats by means of oxypyridine derivative – glutapyrone

¹ Russian Research Centre for Radiology and Surgical Technologies, Saint-Petersburg

² Latvian Institute of Organic Synthesis, Riga

³ Federal Scientific Organization «Saint-Petersburg Research Institute of Radiation Hygiene after Professor P.V. Ramzaev», Saint-Petersburg

Abstract. In experiments on rats (290 animals) exposed to chronic γ -radiation in the total dose of 10.0 Gy it was detected that prescription of synthetic pharmaceutical of the dihydropyridine class-glutapyrone-together with drinking water during 6 months reduced the rate of malignant neoplasms from 26,5% in the control group to 13% in the treated animals. In radiation-exposed rats that received glutapyrone there was a narrowing of spectrum of the emerged neoplasms (connectively-tissual tumors only) as compared to the animals of the radiated control group, where blastomas of epithelium and lymphoid origin were also revealed. Low toxicity of glutapyrone and its anticarcinogenic action show the possibility of practical application of preparation for prevention radiation carcinogenesis.

Key words: chronic γ -ray exposure of the rats, anticarcinogenic action, glutapyrone.

Л.П. Вартанян
Тел.: (812)596-85-43

Поступила: 12.04.2012 г.