

The biological and oncologic characteristics of mice line ICR predisposed to swellings were introduced. The high and stable frequency of appearing of spontaneous neoplasms different localization and histogenesis was detected; 80 % of malignant swellings are breast cancer. The possibility of using locus TNF α heterogeneity for genetic manipulations was shown.

ГУЛЬКО Т.П., ЛИХАЧЕВА Л.И., МАЦЕВИЧ Л.Л., КОРДИУМ В.А.

Институт Молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Украина, 03143, Киев, ул. Заболотного, 150

ВЛИЯНИЕ СКАРМЛИВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ СМЕСИ (БАС) НА ЧАСТОТУ СПОНТАННЫХ ОПУХОЛЕЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У МЫШЕЙ

Профилактика онкологических заболеваний является актуальной задачей. Многочисленные исследования показали сходство многих аспектов канцерогенеза у человека и животных. Особенно это просматривается в выяснении вопросов этиологии, патогенеза, процесса роста опухолей у животных. Поэтому современная экспериментальная онкология активно использует разнообразные животные модели. Для каждого конкретного исследования экспериментатор выбирает модель, учитывая ее особенности и адекватность поставленной задачи, достоинства и недостатки. Классическими объектами экспериментальной онкологии являются линии грызунов, прежде всего, мышей, характеризующиеся повышенной частотой спонтанного возникновения опухолей [1-3].

В данной работе использовались мыши отечественного разведения линии ICR с высокой частотой возникновения спонтанных опухолей (рак молочной железы), содержащиеся на базе вивария Института молекулярной биологии и генетики НАН Украины. Эти животные были впервые выведены в Institute of Cancer Research (ICR) и завезены к нам, как аутбредная популяция мышей со спонтанным возникновением опухоли – рака молочной железы у самок.

В результате длительного близкородственного скрещивания и тщательного отбора животных по таким признакам, как выживаемость, жизнеспособность потомства и опухоленосительство, получена и стабильно поддерживается нами высоко инбредная и высокораквая так называемая сублиния мышей отечественной разводки линии ICR [3,4].

Для животных этой линии характерна высокая частота спонтанного возникновения опухолей молочной железы различной локализации у самок 6 - 8-месячного возраста. А к 1,5 годам от опухолей погибают все самки. Так как у мышей 5 пар сосков, проявление опухолей может быть множественным. Опухоленосительство, как свойство этих мышей, передается по наследству потомству, возможно, при кормлении молоком, что не происходит у человека[5].

Целью наших исследований было изучение влияния скармливания биологически активной смеси (БАС) в качестве добавки к ежедневному рациону на здоровье и физические параметры животных со спонтанно возникающими опухолями молочной железы, как до возникновения опухоли, так и в процессе ее роста.

Материалы и методы

В наших исследованиях использовались самки репродуктивного возраста (на момент начала эксперимента – 2-2,5 мес.), характерным свойством которой является повышенная частота спонтанного возникновения опухолей молочной железы в более позднем возрасте. Из половозрелых мышей были сформированы семьи; эти семьи были разделены на две группы – опытную и контрольную. Экспериментальные животные ежедневно получали дополнительно к стандартному рациону постоянную дозу биологически активной смеси (БАС), которая представляла собой комплексную биодобавку, состоящую из применяемых в медицинской практике витаминов и

антиоксидантов. Состав добавки в данной статье не раскрывается, поскольку в будущем предполагается оформить его как объект авторского права. Чтобы обеспечить равное поступление добавки в организм каждой мыши, БАС скармливалась каждой самке индивидуально, в форме фиксированной дозы двух концентрированных растворов – масляного и на основе молока – нанесенных на хлеб. Животные поедали добавку охотно.

В течение опытного периода времени изучали изменение биологических и физиологических параметров мышей: фиксировали количество родов, величину помета, отмечали возраст появления опухолей у самок, исследовали динамику темпов роста опухоли и длительность жизни животных с онкозаболеваниями. Регулярно способом пальпации анализировали плотность опухоли, визуально наблюдали за изменением ее формы и консистенции. Изменение размеров опухоли оценивали по изменению ее объема. Ежедневно контролировали внешний вид и поведение животных, наличие аппетита к пище с соответствующей добавкой.

Результаты и обсуждение

Основной причиной гибели животных обеих групп в позднем возрасте были злокачественные опухоли. Остальные случаи смерти связаны с неидентифицированными причинами. Однако анализ полученных данных показал, что регулярное употребление биологически активной смеси привело к значительному продлению периода физиологического здоровья самок, т.е. появление спонтанных опухолей наблюдалось у самок из экспериментальной группы в среднем на 35-37 дней позже по сравнению с контрольными животными (табл. 1).

Таблица 1

Влияние скармливания БАС на онкологические характеристики мышей высокоракковой линии ICR

Показатели	Опыт (N=50)	Контроль (N=34)
Возраст появления опухолей у самок (в днях)	300±9,2	263±10,6
Продолжительность жизни самок с опухол. (в днях)	70,7±6,7	54,8±12,2
Доля заболевших самок, %	84,0±1,4	81,6±1,9

Содержание животных до естественной смерти (заболевших – до появления признаков кахексии) позволило определить естественный отход животных, а также долю животных, у которых развилось онкозаболевание, и установить общую продолжительность жизни заболевших самок, которая колебалась в пределах от 11 до 28 мес. Отмечено, что заболевшие самки в опытной группе жили в среднем на 2-2,5 недели дольше, чем в контрольной. Доля заболевших животных в обеих группах достоверно не различалась, что, скорее всего, может свидетельствовать о том, что возникновение опухолей наследственно предопределено.

Иногда у животных отмечалось одновременное образование нескольких опухолей (множественные новообразования). Множественные опухоли не всегда располагались рядом, иногда они появлялись на значительном расстоянии друг от друга. Интересно, что в опытной группе количество животных с множественными опухолями составляло 28% (14 из 50 животных), что меньше, чем в контрольной группе, где такие опухоли образовывались в 38% случаев (13 из 34 животных). Это различие, однако, не носит достоверного характера (использовался критерий χ^2).

В ходе эксперимента было выявлено, что скармливание БАС животным значительно влияло также на репродуктивные свойства самок, в частности, на их плодовитость. В ходе исследования фиксировали следующие показатели: величину

помета и развитие детенышей в постнатальный период. В результате было показано, что у самок экспериментальной группы увеличилось количество больших пометов (9-14 детенышей на момент родов) по сравнению с контрольными. Такое увеличение произошло за счет снижения доли средних пометов (6-8 детенышей), которые у самок этой линии обычно преобладают. При этом доля пометов с малым количеством детенышей (3-5) оставалась практически неизменной. Увеличение размера пометов, по-видимому, происходило в результате лучшей эмбриональной выживаемости и жизнеспособности плодов, о чем свидетельствует не только количество жизнеспособных новорожденных мышат, но и темпы их роста вплоть до отъема детенышей от матери. В среднем, вес мышат, полученных от самок экспериментальной группы, по достижении возраста 4 недель был на 2-3 г больше, чем у детенышей самок из контрольной группы. Мышата от самок опытных групп были более крепкими и жизнеспособными: отход мышат из больших пометов в подсосный период был в 3-3,5 раза ниже, чем среди их сверстников из пометов того же размера, принадлежащих самкам контрольной группы (табл. 2).

Таблица 2

Плодовитость самок ICR при скормлинии им БАС, и постнатальное развитие их потомков.

ПОКАЗАТЕЛИ	ОПЫТ	КОНТРОЛЬ
Количество пометов:		
Большие (9-14)	50±1,2	30,4±1,8
Средние (6-8)	36,1±0,98	56,5±1,1
Малые (3-5)	13,9±0,34	13,1±0,73
Вес мышат при отъеме от матери в больших пометах, г	13,87±0,31 N=101	11,17±0,23 N=31
Отход детенышей в подсосный период в больших пометах, (%)	3,91±0,98 N=128	13,8±1,03 N=58

Многие исследователи связывают появление опухолей и их рост с генетической нестабильностью и повышением пролиферативного потенциала клеток [6,7]. В результате сравнительного анализа динамики роста исследуемых новообразований у животных из опытной группы было установлено значительное замедление роста опухоли до достижения ею объема 1 см³, что может быть причиной лучшего общего состояния здоровья и повышенной сопротивляемости животных, регулярно получавших БАС в качестве добавки к ежедневному рациону. При достижении опухолью объема 1 см³ и более, мы зафиксировали ускорение темпов роста опухоли, наблюдавшееся как у опытных, так и контрольных групп, хотя при этом у экспериментальных животных рост новообразований оставался более медленным и продолжительным, чем в контроле. (рис.1).

Прогрессирующий рост опухоли, как правило, сопровождается возрастанием пролиферативной активности клеток. Этот фактор рассматривается, как основополагающий критерий опухолевой прогрессии. Продолжительное скормливание БАС мышам, возможно, через укрепление иммунной системы, либо же иных защитных систем организма, сдерживает рост опухоли и миграцию клеток. Анализ полного жизненного периода опытных животных выявил значительно большую продолжительность жизни экспериментальных животных, которые получали БАС. К тому же в данном случае у опытных животных рядом с основной опухолью метастазов не наблюдалось. В контроле напротив, появлялись множественные метастазы такой локализации.

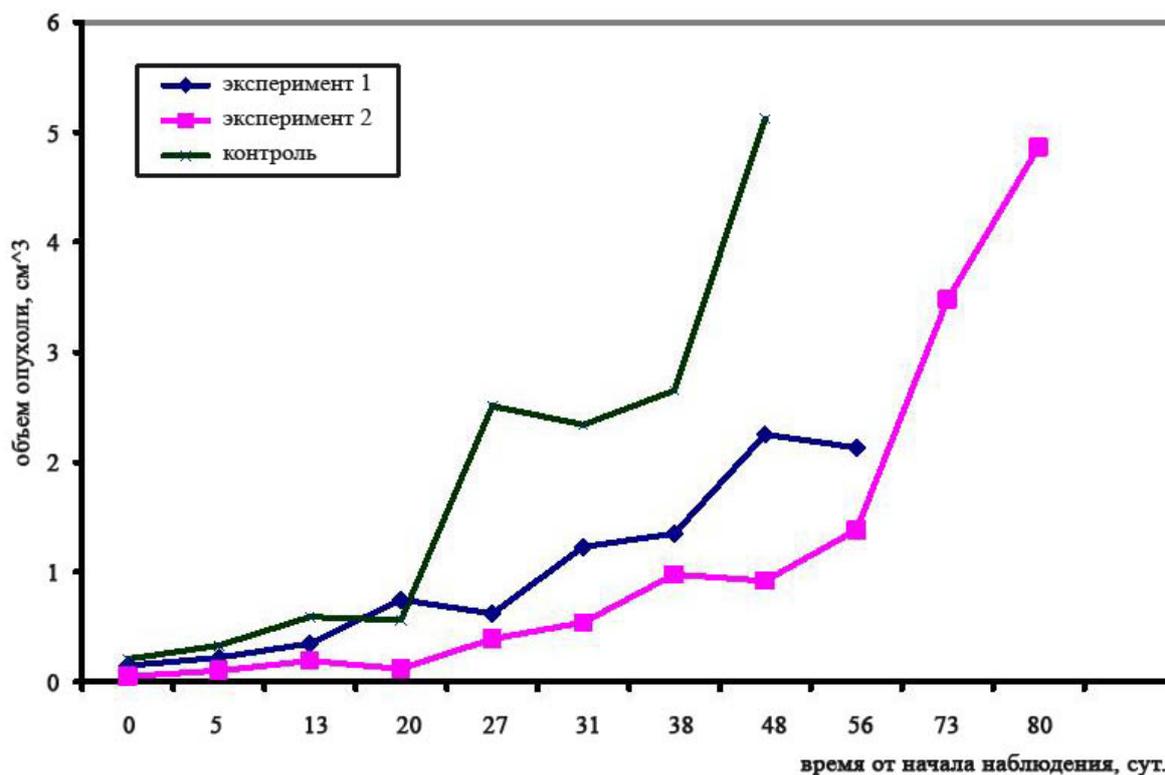


Рис. 1. Динамика роста опухоли у мышей, получавших и не получавших БАС.

Выводы

Скармливание биологически активной смеси (БАС) мышам на протяжении длительного времени положительно влияло на общее состояние здоровых и онкобольных животных, аналогичный эффект замечен также в отношении их размножения и жизнеспособности их потомства. Использование БАС в качестве добавки к ежедневному рациону мышей способствует продлению фазы медленного роста опухоли и уменьшению частоты возникновения метастазов. Это дает основание рекомендовать препарат для клинических испытаний в качестве добавки для укрепления организма человека и снижения риска онкозаболеваний.

Препарат может быть рекомендован также для применения в сельскохозяйственной практике с целью улучшения биологических и физиологических параметров, в том числе, и плодовитости, сельскохозяйственных животных.

Литература

1. Шевченко И.Н. Модели для изучения ранних показателей предопухолевого состояния организма // Материали III наук-практ.конф. "Проблеми онкогенетики: наукові та прикладні аспекти".—2002.—№4.—С.50—51.
2. Бланцова З.К., Душкин В.А., Малащенко В.М. Линии лабораторных животных для медико-биологических исследований. — М. Наука.— 1983.—С190.
3. Медведев Н.И. Линейные мыши. — Ленинград: Медицина.— 1964.—С18с.
4. Kharkovskaya N.A., Krasnova N.N., Klepicov N.N., Khrustalev S.A. Oncologic and genetic characteristics of A/Sn mice // Exp. Oncol. — 2000. — Vol.22. — P. 157 – 159.
5. Лобанова З.И., Бланцова З.К. Онкологическая характеристика мышей инбредных линий — Москва.—1971.—3.—С.20—22.
6. Cahill D.P., Kinzler K.W., Vogelstein B., Lengauer C. Genetic instability and darvian selection in tumors // Trends in Biology Science, Millenium issue.—2000.—P.57—60.
7. Foulds I. Multiple etiologic factors in neoplastic development// Ibid—1980.—40.—P.725—733.

Резюме

Исследована частота возникновения спонтанных опухолей рака молочной железы в процессе длительного скармливания исследуемым мышам биологически активной смеси (БАС). Установлено, что БАС, использованная в качестве добавки к ежедневному рациону животным, оказывает положительное влияние на биологические, физиологические параметры животного и может быть профилактической мерой снижения частоты спонтанного возникновения опухолей и метастазов.

Вивчено частоту виникнення спонтанних новоутворень - раку молочної залози у дослідних мишей на протязі тривалої годівлі біологічно-активної суміші (БАС). Встановлено, що БАС, яка використовувалась як добавка до щоденного раціону мишам, справляла позитивний вплив на здоров'я та фізіологічні параметри тварин, і може розглядатись як перспективний профілактичний захід з точки зору зменшення частоти спонтанного виникнення новоутворень, та метастазування.

The frequency of appearing of spontaneous swellings of mice breast cancer under conditions of long-lasting feeding with biologically active mixture (BAM) was investigated. It was shown that the BAM used as a component of a daily diet for experimental animals had positive effect on physiological characteristics and could be recommended for decreasing of frequency of spontaneous appearing swelling and metastasises.

ДЬОМІНА Е. А., ДЕМЧЕНКО О. М., САВКІНА М. Ю

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України, Україна, 03022, Київ, вул. Васильківська, 45, e-mail: demchenko_e@mail.ru
Інститут математики НАН України, Україна, 01601, Київ-4, вул. Терещенківська, 3*

ХАРАКТЕР КАЛІБРУВАЛЬНИХ ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ КРИВИХ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ІНДИВІДУАЛЬНОЇ РАДІОЧУТЛИВОСТІ ЛЮДИНИ

Невизначеність характеру дозової залежності цитогенетичних ефектів в області малих доз радіації ускладнює біологічну дозиметрію та оцінку канцерогенного ризику в даному інтервалі доз [1]. Новим методичним підходом до побудови калібрувальних кривих є урахування радіочутливості індивідуума [2] на формування якої впливають спадковість, функціональний стан клітини під час опромінення, репаративний потенціал, тощо [3].

Мета роботи: визначити вплив індивідуальної радіочутливості на характер дозових цитогенетичних залежностей.

Матеріали і методи

Дослідження виконано на культурі лімфоцитів периферичної крові донорів з метафазним аналізом аберацій хромосом [2]. Індивідуальну радіочутливість (IP) донорів визначали за допомогою G_2 radiosensitive assay, як рівень радіаційно-індукованих хроматичних делецій на 100 клітин [3]. Тестуюче опромінення виконано на терапевтичному апараті "Рокус", джерелом яких є ^{60}Co ; потужність дози - 0,9 Гр/хв; діапазон досліджених доз 0,1 – 1,0 Гр. Характер дозових кривих вивчали на основі оцінки параметрів лінійної, лінійно-квадратичної та сплайнової моделей.

Результати та обговорення

На дозовій кривій, що отримана для найбільш радіочутливого донора (23 делеції / 100 клітин) в діапазоні 0,1 - 0,3 Гр спостерігається плато, тобто дозозалежна ділянка; калібрувальна крива має високий нахил (при дозі 1,0 Гр - 42 аберації, 0,1 Гр. – 19,6 відповідно) (рис.1).