

УДК 591.3:616-091-013+ : 616-006-02

БИОХИМИЯ

В. А. АЛЕКСАНДРОВ

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭМБРИОТОКСИЧЕСКОГО И ТЕРАТОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ N-НИТРОЗОАЛКИЛМОЧЕВИН НА ЗАРОДЫШЕЙ КРЫС

(Представлено академиком С. Е. Севериным 30 V 1972)

Установлено, что N-нитрозоалкилмочевинны обладают резко выраженной мутагенной активностью (^{1, 2}), бластомогенным (³⁻¹²) и, наряду с этим, противоопухолевым действием (¹³⁻¹⁶). Получены доказательства крайне высокой чувствительности плодов крыс к канцерогенному действию некоторых соединений этого ряда (¹⁷⁻²¹), что представляет особый интерес для изучения проблемы трансплацентарного канцерогенеза (^{22, 23}) и, в частности, для исследования взаимосвязи между тератогенезом и развитием опухолевого роста. В настоящей работе мы обратились к изучению особенностей эмбриотоксического и тератогенного действия ряда N-нитрозоалкилмочевин.

Опыты проводили на белых нелинейных крысах разводки питомника «Рапполово» АН СССР, весом 160—200 г. Были испытаны следующие соединения: N-нитрозометилмочевина (НММ), N-нитрозодиметилмочевина (НДММ), N-нитрозоэтилмочевина (НЭМ) и N-нитрозопропилмочевина (НПМ). Каждое из этих веществ, растворенных перед употреблением в физиологическом растворе, вводили самкам внутривбрюшинно однократно в один из дней точно датированной беременности. Учет результатов воздействия производился на 19—21 дни беременности и состоял, прежде всего, в прижизненном макроскопическом изучении плодов и их плацент. Для определения процента имплантаций подсчитывали желтые тела в обоих яичниках. После осмотра плоды фиксировали на протяжении 7—10 дней в жидкости Буэна и хранили в 70% спирте. Пороки развития внутренних органов регистрировали используя микроанатомирование плодов по методу (²⁴). Для определения эффекта каждого из веществ в различных дозах и на всех исследованных стадиях эмбриогенеза брали не менее 8 беременных крыс.

В серии опытов с однократным введением НММ в дозе 10 мг/кг в каждый из дней беременности (с 1 по 17), было обнаружено, что эмбрионы крыс на разных стадиях неодинаково реагируют на такое воздействие (табл. 1). Введение НММ с 1 по 10 дни беременности приводило к значительному повышению эмбриональной смертности, причем особенно высокую чувствительность проявляли зародыши 3, 4 и 9 дня. Уродства у выживших плодов обнаруживались преимущественно при воздействии НММ в период основного органогенеза с максимумом на 9 и 12—15 дни. Установлено, что как поражение тех или иных органов, так и качественный характер (тип) уродств, как правило, зависели от стадии эмбриогенеза, на которой производилось воздействие. Так, дефекты мозга наиболее часто возникали при введении НММ на 9 день и проявлялись в развитии гидроцефалии и экзэнцефалии и иногда spina bifida. Более позднее введение НММ, на 12—15 дни, сопровождалось возникновением микроцефалии. Аномалии развития глаз в виде анофтальмии обнаруживались в основном после введения НММ на 9 день. Были выявлены две стадии эмбриогенеза, когда воздействие приводило к дефектам лицевого

Эмбриотоксическое и тератогенное действие НММ на зародышей крыс.
Доза 10 мг/кг, внутрибрюшинно, 19—21 дни беременности *

День беременности	Число беременных ♀	Число желтых тел	Число имплантаций	Число погибших эмбрионов, после имплантации	Число живых плодов									
					всего	со всеми уродствами	с уродствами отдельных органов							
							глаз	мозга	верхней челюсти и губы	твердого неба	нижней челюсти	брюшной стенки	мочеполовой системы	передних и задних конечностей
1	8	82	62(75,6)	14(22,6±5,3)	48	0	—	—	—	—	—	—	—	—
2	8	83	62(74,2)	31(50,0±6,4)	31	2(6,4±4,5)	2(6,4)	—	—	—	—	—	—	—
3	10	102	82(80,4)	80(97,6±1,7)	2	0	—	—	—	—	—	—	—	—
4	9	89	82(92,1)	48(85,4±3,9)	34	0	—	—	—	—	—	—	—	—
5	8	78	72(92,3)	45(62,5±5,7)	27	3(1,1±6,1)	3(11,1)	—	—	—	—	—	—	—
6	10	100	87(87,0)	48(55,2±5,3)	39	2(5,1±3,6)	2(5,1)	1(2,6)	—	—	—	1(2,6)	—	—
7	9	83	75(90,4)	22(29,3±5,1)	53	1(1,9±1,9)	1(1,9)	—	—	—	—	—	—	—
8	10	90	86(97,7)	33(38,3±5,3)	53	2(3,8±2,6)	1(1,9)	—	—	—	—	1(1,9)	—	—
9	11	91	79(86,8)	69(87,3±3,1)	10	8(80,0±42,0)	6(60,0)	7(70,0)	2(20,0)	—	—	2(20,0)	2(20,0)	—
10	10	98	92(93,9)	55(59,8±5,1)	37	14(37,8±8,1)	8(21,6)	10(27,0)	1(2,7)	—	—	—	—	—
11	8	76	74(97,4)	11(14,9±4,1)	73	6(8,2±3,3)	—	6(8,2)	—	—	—	—	—	—
12	10	104	99(95,2)	6(6,1±2,4)	93	80(86,0±3,1)	—	56(70,0)	—	—	—	—	27(29,0)	9(9,7)
13	10	103	98(97,0)	3(3,1±1,8)	95	95(100)	—	95(100)	—	33(34,7)	95(100)	—	—	95(100)
14	8	74	72(97,3)	2(2,8±1,9)	70	70(100)	—	70(100)	—	47(67,1)	3(4,3)	—	—	14(20)
15	9	86	84(97,6)	2(2,4±1,7)	82	82(100)	—	82(100)	—	8(9,7)	—	—	2(2,4)	—
16	8	82	79(96,3)	4(5,1±2,5)	75	15(20,0±4,6)	—	15(20)	—	—	—	—	—	—
17	7	69	62(89,9)	1(1,6±1,6)	61	0	—	—	—	—	—	—	—	—
Контроль	42	418	399(95,5)	23(5,8±1,2)	376	0	—	—	—	—	—	—	—	—

* В скобках — данные в процентах.

черепе. Для первой из них (9 день) характерным было развитие таких аномалий верхней челюсти, как расщепление и несрастание верхнечелюстных отростков, а также рассечение верхней губы. Для второй стадии (13 день) типичным было недоразвитие нижней челюсти. Расщелины твердого неба определялись после воздействия НММ на 13–14 дни и лишь иногда на 15 день эмбриогенеза. Уродства конечностей (чаще всего эктродактилия на передних конечностях и полидактилия и синдактилия — на задних) были зарегистрированы у большинства плодов, подвергнутых

воздействию на 13 день, и только у некоторых — на 12 или 14 дни эмбриогенеза. Аномалии брюшной стенки с возникновением печеночных грыж или, реже, с эвентерацией органов брюшной полости встречались при введении НММ на 6, 8 и 9 дни. Наконец, уродства мочеполовой системы (крипторхизм, смещение почек, одно- или двусторонний гидронефроз) были отмечены после воздействия на 9 и 12 дни эмбриогенеза.

Ориентируясь на результаты опытов с НММ, позволивших выявить стадийность в реакции эмбриона на воздействие этого вещества, было проведено тестирование других соединений — НДММ, НЭМ и НПМ. Препараты вводили однократно, но только на 9 и 13 дни эмбриогенеза, т. е. на стадиях максимального проявления тератогенного действия НММ. Для каждого вещества одна из доз выбиралась как эквивалентная по эмбриотоксичности (несколько больше LD_{50})

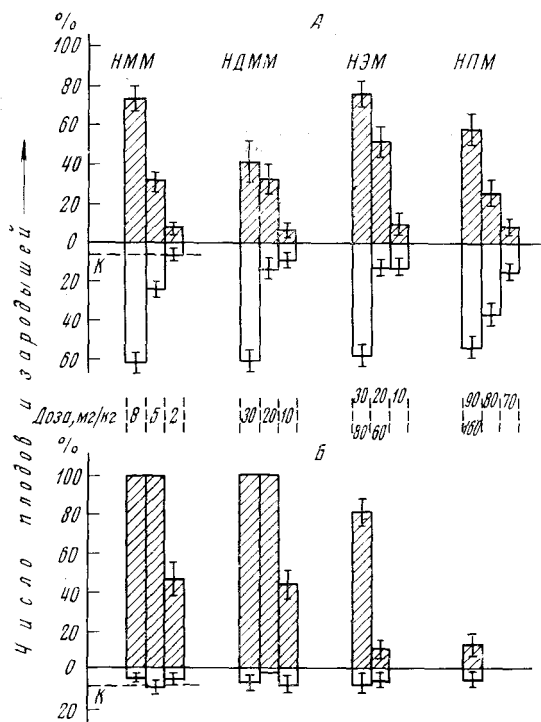


Рис. 1. Относительное количество погибших зародышей и плодов с уродствами, наблюдавшихся при введении N-нитрозоалкилмочевин на 9 (А) и 13 (Б) дни эмбриогенеза крыс. а — тератогенный эффект, б — эмбриотоксический эффект, к — контроль

для эмбрионов 9 дня. Затем дозы снижали, причем последняя, как правило, соответствовала минимальной тератогенной. Установлено, что наивысшей тератогенной активностью, исходя из эквимоларных концентраций, обладает НММ. У других гомологичных веществ с увеличением числа или длины алкильных групп наблюдалось ослабление тератогенного эффекта (рис. 1). Аналогичная закономерность обнаружена в отношении мутагенной активности и токсичности у нитрозоалкилмочевин (²⁵).

При введении любого из соединений комплекс уродств, характерный для стадии 9 дня (гидроцефалия, экзэнцефалия, анофтальмия, дефекты верхней челюсти и губы) и 13 дня эмбриогенеза (микроцефалия, микрогнатия, расщелины неба и дефекты конечностей), был однотипным. Однако обнаружены отчетливые различия в чувствительности эмбрионов 9 и 13 дня к воздействию НММ и НДММ, с одной стороны, и НЭМ и НПМ с другой. Так, при сопоставимых дозах НММ и НДММ обнаруживали более высокую тератогенную активность на 13 день, тогда как НЭМ и НПМ — на 9 день эмбриогенеза.

Таким образом, все испытанные N-нитрозоалкилмочевины обладают высокой, хотя и неодинаковой, тератогенной активностью, особенности проявления которой зависят от стадии эмбриогенеза, на которой производилось воздействие. Ранее нами было показано, что симметричные диалкилнитрозамины совершенно не обладают тератогенным действием^(26, 27), что связывалось с невозможностью их преобразования в биологически активные метаболиты (диазоалканы) из-за отсутствия в тканях эмбриона деметилирующих энзимов. N-Нитрозоалкилмочевины способны образовывать биологически активные диазоалканы в результате гидролиза в физиологических условиях, что, возможно, и объясняет их выраженный тератогенный эффект. Выявленные различия в действии диалкилнитрозаминов и N-нитрозоалкилмочевин не позволяют считать, что в основе тератогенного эффекта последних лежит тот же механизм прямого действия, с которым связывают проявление мутагенности ряда нитрозосоединений⁽²⁸⁾.

Научно-исследовательский институт онкологии
им. Н. Н. Петрова
Министерства здравоохранения СССР
Ленинград

Поступило
24 VI 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ И. А. Рапопорт, ДАН, 146, № 6, 1418 (1962). ² Там же, 148, № 3, 696 (1963).
- ³ H. Druckrey, S. Ivankovic, R. Preussmann, Naturwiss., 51, 144 (1964).
- ⁴ H. Druckrey, S. Ivankovic, R. Preussmann, Zs. Krebsforsch., 66, 389 (1965).
- ⁵ S. Ivankovic, H. Druckrey, R. Preussmann, Zs. Krebsforsch., 66, 541 (1965).
- ⁶ H. Druckrey, R. Preussmann et al., Zs. Krebsforsch., 69, 2, 103 (1967).
- ⁷ K. Herrold, J. Pathol. Bacteriol., 92, 1, 35 (1966).
- ⁸ A. Graffi, F. Hoffmann, Acta biol. med. german., 16, 1, K1 (1966).
- ⁹ Ibid., 17, 6, K33 (1966).
- ¹⁰ A. Graffi, F. Hoffmann, Arch. Geschwulstforsch., 28, 3, 234 (1966).
- ¹¹ W. Jänisch, D. Schreiber, Naturwiss., 54, 7, 171 (1967).
- ¹² R. Warzok, J. Schneider et al., Experientia, 26, 3, 303 (1970).
- ¹³ F. M. Shabel, J. T. P. Johnston et al., Cancer Res., 23, 725 (1963).
- ¹⁴ Н. М. Эмануэль, Е. М. Вермель и др., ДАН, 163, № 2, 483 (1965).
- ¹⁵ Н. М. Эмануэль, Е. М. Вермель и др., Сборн. Супермутагены, М., 1966, стр. 81.
- ¹⁶ Л. А. Островская, С. А. Кругляк, Е. М. Вермель, Вопр. онкол., 12, 10, 83 (1966).
- ¹⁷ S. Ivankovic, R. Druckrey, R. Preussmann, Naturwiss., 53, 16, 440 (1966).
- ¹⁸ H. Druckrey, S. Ivankovic, R. Preussmann, Nature, 210, 5043, 1378 (1966).
- ¹⁹ S. Ivankovic, H. Druckrey, Zs. Krebsforsch., 71, 320 (1968).
- ²⁰ H. Druckrey, C. Landschütz, S. Ivankovic, Zs. Krebsforsch., 73, 371 (1970).
- ²¹ В. А. Александров, Вопр. онкол., 15, 4, 55 (1969).
- ²² Н. П. Напалков, В. А. Александров, Усп. совр. биол., 65, 3, 464 (1968).
- ²³ Н. П. Напалков, Вопр. онкол., 17, 8, 3 (1971).
- ²⁴ J. G. Wilson, In: Teratology. Principles and Techniques, N. Y., 1965, p. 262.
- ²⁵ И. А. Рапопорт, Сборн. Супермутагены, «Наука», 1966, стр. 9.
- ²⁶ В. А. Александров, Вопр. онкол., 13, 5, 87 (1967).
- ²⁷ N. P. Napalkov, V. A. Alexandrov, Alkylierend wirkende Verbindungen, II Conf. Tobacco Res., Freiburg, 1967, p. 65.
- ²⁸ И. А. Рапопорт, ДАН, 189, № 2, 407 (1969).