

DOI 10.29254/2077-4214-2019-2-1-150-270-274

УДК 615.9:632.95:616-006

Баглий Є. А., Недопитанська Н. М., Лісовська В. С., Решавська О. В., Ткаченко Л. В.

**ІНДУКЦІЯ S-МЕТОЛАХЛОРОМ ПЕРЕДПУХЛИННОГО СТАНУ  
В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ, ІНІЦІЙОВАНИХ ДО КАНЦЕРОГЕНЕЗУ НІТРОЗОДІЕТИЛАМІНОМ  
ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки  
імені академіка Л.І. Медведя  
Міністерства охорони здоров'я України» (м. Київ)**

byamedved@gmail.com

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Робота виконана в рамках НДР ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України» за темою «Наукове обґрунтування сучасних нормативних вимог до застосування пестицидів і агрохімікатів: прогнозування віддалених ефектів дії (канцерогенної, мутагенної, тератогенної активності, репродуктивної токсичності, хронічних інтоксикацій)», № державної реєстрації 0108U007458.

**Вступ.** Захворюваність на рак пов'язана з дією канцерогенних чинників навколишнього середовища в побуті та на виробництві. Серед цих факторів, за епідеміологічними даними знаходиться і застосування пестицидів [1,2].

Сьогодні доведено, що канцерогенез – багато-стадійний процес, в якому найбільш узагальненими стадіями є: ініціація, промоція і прогресія. Трансформація нормальних клітин в пухлинні відбувається на стадії ініціації під впливом різних екзогенних і ендогенних факторів. Серед екзогенних факторів значне місце займають хімічні речовини. Вони можуть ініціювати канцерогенез в різних органах, а пестициди діяти на інших стадіях, як промотори цього процесу, створюючи умови для селекції і проліферації стовбурових клітин пухлин [3].

Величезний асортимент токсикантів і масштабів їх застосування в діяльності людини, а також забруднення навколишнього середовища, ускладнює ідентифікацію ініціаторів канцерогенезу. Тому була запропонована експериментальна модель, в якій ініціація проводилася нітрозодіетиламіном (НДЕА), як одним з найбільш ймовірних факторів, який може утворитися при вирощуванні сільськогосподарської продукції і в процесі приготування продуктів харчування [4,5]. За гепатоканцерогенезу у трансформованих гепатоцитів експресується  $\gamma$ -глутамілтранспептидаза (ГТП). Проліферація цих клітин призводить до утворення їх фокусів в тканині печінки. Кількість і розміри цих фокусів, характеризують передпухлинний стан і є основними критеріями у визначенні промоторної активності досліджуваних факторів [5].

S-метолахлор, (2-хлор-N-(6-етил-о-толіл)-N-[(1S)-2-метокси-1-метилетил] ацетамід), є біологічно активним ізомером метолахлору і визначає його гербіцидний ефект, обумовлений гальмуванням синтезу білка у рослинах. Речовина широко використовується в світі в якості доскодового гербіциду, при вирощуванні різних сільськогосподарських культур. На

відміну від рацемічного метолахлору ця речовина складається з 100 – 80 % лівобічного S – енантіомеру.

Даних щодо вивчення канцерогенності S-метолахлору в літературі не виявлено. Експертами US EPA він класифікований як можливий канцероген для людини за аналогією з канцерогенністю рацемічного метолахлору [6]. Однак питання впливу просторової зміни структури на канцерогенні властивості речовини, на даний час недостатньо вивчене. Оскільки біологічна активність цих енантіомерів за їх впливом на рослини значно відрізняється, не можна повністю виключати різницю в їх дії на організм тварин і людини.

**Метою цієї роботи** було – вивчити індукцію S-метолахлором передпухлинного стану в печінці щурів, ініційованих до канцерогенезу НДЕА.

**Об'єкт і методи дослідження.** Експериментальні дослідження проведено в Центрі превентивної та регуляторної токсикології Державного підприємства «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України» відповідно до вимог Належної лабораторної практики. Досліди виконані з дотриманням вимог та положень комісії з етики медичних та біологічних досліджень Центру, Закону України «Про захист тварин від жорсткого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) та Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей.

Експеримент поставлено у відповідності з протоколом, рекомендованим N Ito для виявлення гепатоканцерогенів, з нашими модифікаціями [4,7]. В експерименті використано 75 щурів-самців Wistar Han SPF з масою тіла 170-200 г, які були отримані з розплідника Центру. Після карантину і рандомізації тварин були сформовані експериментальні групи: дві контрольні – негативний і позитивний контроль (1, 5) та піддослідні групи (2, 3, 4), кожна з яких складалася з 15 особин. Після 5 добової акліматизації, всім тваринам була проведена одноразова інтраперитонеальна ін'єкція НДЕА 98 % (Sigma, USA) в дозі 200 мг/кг.

Тестова речовина – S-метолахлор, генеричний, 97,2 %, з яких 87,2 % становив S-енантіомер, відповідає міжнародним стандартам [6]. Тваринам 2, 3 і 4 груп S-метолахлор вводився через 2 тижні, після ін'єкції НДЕА в дозах 1,5; 15 і 150 мг/кг м.т., відповідно. Щурам з 1 групи (негативний контроль) вводили воду з ОП-10 (0,05 % розчин), а з 5 – (позитив-

ний контроль) – фенобарбітал натрію, 99 % (Alkaloida Chemical Company, Hangry) у дозі 37 мг/кг м.т. за тих же умов, що і піддослідним тваринам. Розчини S-метолахлору і фенобарбіталу готувалися щодня (ex tempore) на воді з додаванням ОП-10. Введення розчинів щурам відбувалося зранку натщесерце в режимі 5 разів на тиждень (експозиція з 1 по 5 день, 6 і 7 день – очікування), внутрішньошлунково, за допомогою металевого зонду в допустимому обсязі для дрібних лабораторних тварин [8].

Дози обрані, відповідно рекомендаціям [8] та існуючої інформації щодо токсикологічної оцінки метолахлору [6]. Протягом експозиції здійснювали корекцію доз з урахуванням динаміки маси тіла тварин через кожні 7 днів. Через 3 тижні від початку експерименту тваринам за методом Higgins and Anderson проводили часткову гепатектомію. За два дні після чого, S-метолахлор продовжували вводити ще протягом 5 тижнів.

Контроль стану тварин проводився щодня з метою виявлення будь-яких відхилень, пов'язаних з впливом досліджуваної речовини. Оцінювалися поведінка тварин, їх рухливість, апетит, стан шкіри та шерсті, слизових оболонок.

Через 24 години після останнього експозиційного введення в CO<sup>2</sup> камері проводили евтаназію. Процедура виконувалась з дотриманням правил гуманного ставлення до тварин.

При розтині, проводилось макроскопічне обстеження всіх внутрішніх органів. Гістологічні дослідження виконувались в разі виявлення патологічних змін. Для гістохімічного аналізу відбиралися зразки печінки усіх тварин. Після вилучення печінки визначалася її абсолютна і відносна маса.

На мікроскопом-кріостаті готували зрізи товщиною 5-10 мкм, що потім фіксували у охолоджену ацетоні. Гістохімічна реакція з визначення γ-глутамілтранспептидази – маркера трансформованих гепатоцитів проводилася за методом Гленера [7]. Після проведеної реакції підраховувалися кількість і площа утворених фокусів за допомогою комп'ютерної програми. Для стандартизації даних показників їх визначали на см<sup>2</sup> площини печінкового зрізу.

Для статистичного аналізу отриманих результатів використовувався пакет комп'ютерних програм Microsoft Excel 2010. Отримані експериментальні дані представлені як середнє арифметичне M та його стандартне відхилення SD, або медіана Me, а також мінімальних і максимальних дат для груп із ненормальним розподілом ознак. Отримані значення оброблялися методами математичної статистики з метою виявлення відмінностей між експериментальними групами тварин і контролем за допомогою параметричного двостороннього t-критерію Стьюдента для незалежних вибірок, або непараметричного U-критерію Манн-Уїтні. Відмінності між групами вважали вірогідними при прийнятому рівні статистичної значимості p ≤ 0,05.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Протягом всього періоду експозиції в експериментальних групах не спостерігалось загибелі тварин, яка була б пов'язана з введенням речовини. Поведінка, зовнішній вигляд, рухова активність у більшості

щурів у всіх групах протягом експерименту не змінювалися. Тварини охоче поїдали корм і споживали воду. Під час гепатектомії загинуло по одній тварині з кожної групи. У 4 щурів з 3 групи (27%) протягом експериментального періоду було відмічене збудження в поведінці і зниження маси тіла.

Протягом експерименту змін маси тіла щурів-самців Wistar Han і її приросту у піддослідних тварин у порівнянні з негативним контролем не встановлено. Так після введення НДЕА маса тіла щурів у всіх групах знижувалася на 7 %. Потім спостерігався період відновлення і повторне зниження маси тіла після гепатектомії на 4 %. Введення S-метолахлору не впливало на зміну маси тіла і її приросту. У **таблиці 1** представлені останні дані визначення маси тіла тварин після закінчення експозиції до S-метолахлору перед евтаназією. Цей показник у тварин експериментальних груп статистично не відрізнявся від контрольних.

Після евтаназії в ході зовнішнього огляду тварин експериментальних груп в порівнянні з контролем не виявлено будь-яких відмінностей зовнішнього вигляду. За даними патологоанатомічного дослідження щурів, яким вводили S-метолахлор, не знайдено макроскопічних змін стану внутрішніх органів і тканин, які б відрізнялися від контролю. При порівняльному аналізі змін абсолютної і відносної маси печінки у піддослідних щурів і тварин негативного контролю статистично достовірних відмінностей не виявлено (**табл. 1**). У щурів, які отримували фенобарбітал, встановлено статистично достовірне збільшення відносної маси печінки.

Таким чином, S-метолахлор у досліджуваних дозах не проявляв як загальнотоксичної, так гепатотоксичної дії у щурів, ініційованих НДЕА до гепатоканцерогенезу.

Таблиця 1.

Кінцева маса тіла і печінки щурів

Група тварин (n=14)	Маса тіла (г) <sup>1</sup>	Абсолютна маса (г) <sup>1</sup>	Відносна маса (%) <sup>1</sup>
Негативний контроль (вода ОП-10)	316,7 ± 26,8	11,07 ± 1,2	3,5 ± 0,3
S-метолахлор, 1,5 мг/кг	318,9 ± 21,3	11,3 ± 0,9	3,6 ± 0,3
S-метолахлор, 15 мг/кг	326,0 ± 17,7	11,4 ± 1,3	3,5 ± 0,3
S-метолахлор, 150 мг/кг	306,9 ± 25,7	10,3 ± 1,6	3,4 ± 0,3
Позитивний контроль (фенобарбітал, 37,5 мг/кг)	316,9 ± 28,5	12,4 ± 2,7	3,9 <sup>2</sup> ± 0,6

Примітка: <sup>1</sup> – M ± SD; <sup>2</sup> – p ≤ 0.05.

Відомо, що трансформовані канцерогенами клітини експресують фермент γ-ГТП, який є гістохімічним маркером пренеопластичних змін. Проліферація та селекція клонів трансформованих канцерогеном клітин печінки призводить до утворення пренеопластичних локусів, а згодом – до гіперпластичних фокусів [5] (**рис.**).

Кількість і розміри гіперпластичних γ-ГТП позитивних фокусів в печінковій тканині є головними критеріями у визначенні промоторної активності досліджуваної речовини [9]. У таблиці 2 представлені дані щодо впливу S-метолахлору на утворення і ріст γ-ГТП позитивних фокусів в печінці щурів.

При оцінці показників γ-ГТП-активних фокусів в печінці щурів використовувалися методи непара-

метричної статистики, оскільки вибірка отриманих результатів не підкорялася закону нормального розподілу. Для більш точного порівняння показників з контролем визначалися їх медіани [10]. Встановлено статистично достовірне збільшення середньої загальної площі позитивних на  $\gamma$ -глутамілтранспептидазу фокусів в печінці в 4,7 рази і в 11 разів у тварин, які отримували S-метолахлор, відповідно в дозах 15 і 150 мг/кг. Середня кількість фокусів на  $\text{см}^2$  в печінці щурів цих груп також збільшувалася в порівнянні з контролем відповідно в 4,8 і 8,3 рази. Аналізуючи ці результати можна прийти до висновку, що зміна загальної середньої площі відбувається за рахунок збільшення кількості  $\gamma$ -ГТП-активних фокусів.

Додаткове утворення у щурів печінкових фокусів може відбуватися, перш за все, за рахунок мутацій в гепатоцитах, індукованих досліджуваним агентом. Однак, достеменно відомо, що S-метолахлор не проявляє генотоксичної дії. При дослідженні в тестах з виявлення генних мутацій (тест Еймса), точкових мутацій в культурі клітин L51784 і цитогенетичних пошкоджень (індукція хромосомних аберацій і мікроядер в клітинах яєчника сирійського ховрашка і кісткового мозоку мишей – ефект негативний [6,11].

Отже, можна припускати, що збільшення кількості фокусів обумовлено проліферацією ініційованих НДЕА гепатоцитів до розмірів, що детектуються. Дані про вплив S-метолахлору на проліферацію гепатоцитів відсутні. Разом з тим відомо, що метолахлор, який представляє собою рацемічну суміш енантіомерів (1:1), гальмував проліферацію клітин печінки HepG2 *in vitro*. Аналіз результатів проточної цитометрії розподілу клітин в циклі показав, що обробка метолахлором гепатоцитів призводила до зменшення їх кількості у фазі G2/M і накопичення – у S-фазі. Автори не спостерігали збільшення некрозів і апоптозу гепатоцитів [10,12].

Метолахлор не індукував незапланованого синтезу ДНК у гепатоцитах щурів *in vivo* та в клітинах фібробластів людини *in vitro*. У цьому тесті на щурах також спостерігалось значне збільшення процентної частки гепатоцитів у S-фазі [11].

Зниження рівня синтетичних процесів в гепатоцитах пов'язано з пригніченням енергетичного обміну метолахлором [13,14].

Гальмування росту нормальних гепатоцитів створює переваги для проліферації трансформованих НДЕА гепатоцитів, які мають меншу чутливість до антипроліферативної дії ксенобіотиків і підвищену чутливість до мітогенів, або інших сигналів регенерації.

Надалі відбувається селекція більш життєздатних клітинних клонів. Ці трансформовані гепатоцити з більш високою проліферативною активністю і утворюють стовбурові клітини пухлини. Показником появи таких клонів в даному випадку слугує площа вузлика. Середня площа вузлика у тварин, які отримували дози 1,5 і 15 мг/кг, статистично

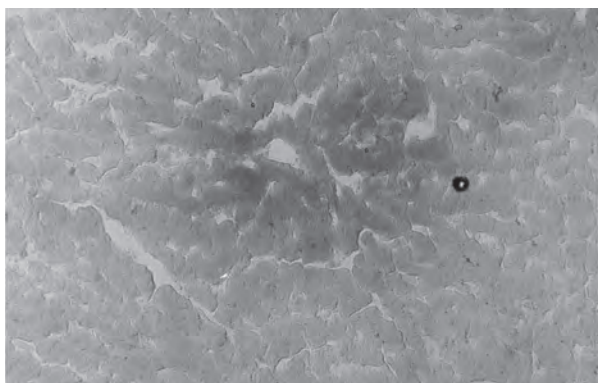


Рис.  $\gamma$ -глутамілтранспептидазапозитивний фокус в печінці щурів, які отримували S-метолахлор у дозі 150 мг/кг, Метод Гленера [7] x 200.

не відрізнялася від контролю. У дозі 150 мг/кг спостерігалось статистично достовірне збільшення цього показника на 12,8 %. З огляду на можливість значної варіабельності цього показника у тварин піддослідних груп, були проаналізовані індивідуальні дані. Для цього були відібрані тварини, у яких площа ГТП-фокусу була вище його середньої площі контрольних тварин. Виявилось, що кількість таких щурів в контрольній групі була практично однаковою з групами, в яких тварини отримували дози 1,5 і 15 мг/кг S-метолахлору. У групі, де тварини отримували високу дозу S-метолахлору, їх виявилось значно більше – 93%.

Фенобарбітал, який був використаний в якості позитивного контролю, збільшував середню загальну площу і кількість позитивних на  $\gamma$ -глутамілтранспептидазу фокусів в печінці у 5 разів у порівнянні з негативним контролем. Середня площа фокуса також збільшувалася на 6,4 %. Кількість тварин, у яких площа ГТП-фокуса була вище його середньої площі у контрольних тварин становила – 71%.

Рацемічний метолахлор, у якому менший вміст біологічно активного S-енантіомеру, почав застосовуватися раніше і тому більш вивчений [2,11]. Ця речовина як і S – метолахлор не проявляла генотоксичних властивостей, проте у хронічних експериментах на щурах індукувала статистично значиме збільшення частоти аденом і карцином печінки у самиць і по-

Таблиця 2. Кількість і площа гіперпластичних  $\gamma$ -ГТП фокусів в печінці тварин

Група тварин (n = 14)	Площа фокусів ( $\text{мм}^2/\text{см}^2$ )	Кількість фокусів на $\text{см}^2$	Середня площа фокусів ( $\text{мм}^2$ )	Кількість щурів з великими вузликами
Негативний контроль (вода ОП-10)	0,36 <sup>2</sup> (0,20-3,03)	8,17 (3,43-63,58)	0,047 (0,038-0,059)	7 (50%)
S-метолахлор, 1,5 мг/кг	0,35 (0,10-2,71)	7,47 (2,39-50,41)	0,052 (0,038-0,091)	6 (43%)
S-метолахлор, 15 мг/кг	1,69 <sup>3</sup> (0,15-5,06)	39,47 (3,89-94,67)	0,048 (0,039-0,064)	8 (57%)
S-метолахлор, 150 мг/кг	3,94 <sup>4</sup> (0,49-13,65)	72,44 <sup>4</sup> (12,89-179,4)	0,053 <sup>3</sup> (0,038-0,076)	13 (93%) <sup>3</sup>
Позитивний контроль (фенобарбітал, 37,5 мг/кг)	1,84 <sup>3</sup> (0,14-12,21)	40,34 <sup>4</sup> (3,18-162,2)	0,050 (0,038-0,075)	10 (71%)

Примітки: <sup>1</sup> –  $M \pm SD$ ; <sup>2</sup> –  $Me$  (min – max); <sup>3</sup> –  $p \leq 0,05$ ; <sup>4</sup> –  $p \leq 0,01$  у порівнянні з негативним контролем, тест Манна – Уїлкінсона.

зитивний тренд розвитку цих пухлин у самців у дозі близько 150 мг/кг.

**Висновок.** Таким чином, лівобічний енантіомер метолахлору – S-метолахлор, індукує розвиток передпухлинних станів за гепатоканцерогенезу ініційованого НДЕА у щурів в дозі, яка викликає онкогенний ефект при експозиції до рацемічного, RS-метолахлору. Збільшення кількості та площі ГТП

– активних фокусів гепатоцитів в печінці має дозозалежний характер. Показано наявність порогу цього ефекту.

**Перспективи подальших досліджень.** В подальших дослідженнях планується вивчення онкогенного ризику для людини застосування S-метолахлору в якості засобу захисту рослин.

### Література

1. Guha N, Guyton KZ, Loomis D, Barupal DK. Prioritizing chemicals for risk assessment using cheminformatics: examples from the IARC Monographs on Pesticides. *Environ Health Perspect*. 2016;124(12):1823-9.
2. Silver SR, Bertke SJ, Hines CJ, Alavanja MC, Hoppin JA, Lubin JH, et al. Cancer incidence and Metolachlor use in the Agricultural Health Study: An update. *Int J Cancer*. 2015;137(11):2630-43.
3. Goodson WH, Lowe L, Carpenter DO, Gilbertson M, Manaf Ali A, Lopez de Cerain Salsamendi A, et al. Assessing the carcinogenic potential of low-dose exposures to chemical mixtures in the environment: the challenge ahead. *Carcinogenesis*. 2015;36:254-96.
4. Park J, Seo J, Lee J, Hoonjeong K. Distribution of Seven N-Nitrosamines in Food. *Toxicol Res*. 2015;31(3):2630-43.
5. Ito N, Shirai T, Hasegawa R. Medium-term bioassays for carcinogens. In Vanino H, Magee P, McGregor D. *Mechanisms of Carcinogenesis in Risk Identification*. Lyon: IARC Scientific Publication; 1992. p. 353-88.
6. US EPA S-Metolachlor; Pesticide Tolerances Federal Register Volume 79, Number 60 (Friday, March 28, 2014) Rules and Regulations. p. 17436-41.
7. Bahliy YeA, Lisovs'ka VS, Reshavs'ka OV, Nedopytans'ka NM. Vplyv avermektyniv na initsiyovani nitrozodymetylaminom hepatotsyty shchuriv. *Sovremennye problemy toksykologiyi*. 2011;1-2(52):22-6. [in Ukrainian].
8. OECD, Guidance Document 116 on the Conduct and Design of Chronic Toxicity and Carcinogenicity Studies, Supporting Test Guidelines 451, 452 and 453. Series on Testing and Assessment. Paris: OECD; 2012. 156 p.
9. McGregor DB, Rice JM, Vennitt S, editors. *The Use of Short- and Medium-term Tests for Carcinogens & Data on Genetic Effects in Carcinogenic Hazard Evaluation*. Lyon: IARC Scientific Publications; 1999. 146 p.
10. Lowry DM, Greiner D, Fretheim M, Ubben M, Dhanwada KR. Mechanism of Metolachlor action due to alterations in cell cycle progression. *Cell Biol Toxicol*. 2013;29(4):283-91.
11. Toxnet: Metolachlor. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> (viewed on April 22, 2019).
12. Hartnett S, Musah S, Dhanwada KR. Cellular effects of Metolachlor exposure on human liver (HepG2) cells. *Chemosphere*. 2013;90(3):1258-66.
13. Dierickx PJ. Glutathione-dependent cytotoxicity of the chloroacetanilide herbicides alachlor, metolachlor, and propachlor in rat and human hepatoma-derived cultured cells. *Cell Biol Toxicol*. 1999;15(5):325-32.
14. Dalton SR, Miller RT, Meyer SA. The herbicide metolachlor induces liver cytochrome P450s 2B1/2 and 3A1/2, but not thyroxine-uridine dinucleotide phosphate glucucosyltransferase and associated thyroid gland activity. *International Journal of Toxicology*. 2003;12-22(4):287-95.

### ІНДУКЦІЯ S-МЕТОЛАХЛОРОМ ПЕРЕДПУХЛИННОГО СТАНУ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ, ІНІЦІЙОВАНИХ ДО КАНЦЕРОГЕНЕЗУ НІТРОЗОДІЕТИЛАМІНОМ

**Баглій Є. А., Недопитанська Н. М., Лісовська В. С., Решавська О. В., Ткаченко Л. В.**

**Резюме.** Гербицид S-метолахлор широко використовується при вирощуванні сільськогосподарських культур. Вивчено його вплив на розвиток передпухлинних станів печінки щурів за канцерогенезу, ініційованого нітрозодіетиламіном (НДЕА). Експерименти виконані на щурах самцях Wistar Han, у яких за допомогою НДЕА, був ініційований канцерогенез. За гепатоканцерогенезу у трансформованих гепатоцитів експресується фермент  $\gamma$ -глутамілтранс-пептидаза (ГТП). Проліферація цих клітин призводить до утворення фокусів в тканині печінки. Кількість і розміри цих фокусів, характеризують передпухлинний стан і є основними критеріями у визначенні промоторної активності досліджуваних факторів. Виявлено збільшення кількості загальної та середньої площі  $\gamma$ -ГТП-позитивних фокусів в печінці тварин, які отримували середню і високу S-метолахлор у дозах 15 і 150 мг/кг, а також фенобарбітал. У дозі 1,5 мг/кг ефект був відсутній. Встановлено, що S-метолахлор індукує передпухлинний стан у печінці, підсилюючи проліферацію трансформованих гепатоцитів, і таким чином реалізує промоцію гепатоканцерогенезу, ініційованого НДЕА. Показано граничний характер цього ефекту.

**Ключові слова:** гепатоканцерогенез, НДЕА, S-метолахлор,  $\gamma$ -глутамілтранс-пептидаза, проліферативні процеси, передпухлинний стан.

### ИНДУКЦИЯ S-МЕТОЛАХЛОРОМ ПРЕДОПУХОЛЕВЫХ СОСТОЯНИЙ В ПЕЧЕНИ КРЫС, ИНИЦИИРОВАННЫХ КАНЦЕРОГЕНЕЗУ НИТРОЗОДИЭТИЛАМИНОМ

**Баглей Е. А., Недопитанская Н. Н., Лисовская В. С., Решавская Е. В., Ткаченко Л. В.**

**Резюме.** Гербицид S-метолахлор широко используется при выращивании сельскохозяйственных культур. Исследовано его влияние на развитие предопухолевых состояний в печени при канцерогенезе, инициированном нитрозодиэтиламином (НДЭА). Эксперименты выполнены на крысах самцах Wistar Han, у которых с помощью НДЭА, был инициирован канцерогенез. При гепатоканцерогенезе в трансформированных гепатоцитах экспрессируется фермент  $\gamma$ -глутамилтранс-пептидаза (ГТП). Проллиферация этих клеток приводит к образованию узелков в ткани печени. Количество и размеры этих узелков, характеризуют предопухолевое состояние и являются основными критериями при оценке промоторной активности исследуемых факторов. Выявлено увеличение количества общей и средней площади  $\gamma$ -ГТП-положительных узелков в печени животных, получавших S-метолахлор в дозах 15 и 150 мг/кг, а также фенобарбитал. В дозе 1,5 мг/кг эффект отсутствовал. Установлено, что S-метолахлор индуцирует развитие предопухолевого состояния, усиливая пролиферацию трансформированных гепатоцитов, и, таким образом, оказывает промоторный эффект в канцерогенезе печени, инициированном НДЭА у крыс. Показан пороговый характер этого эффекта.

**Ключевые слова:** гепатоканцерогенез, НДЭА, S-метолахлор,  $\gamma$ -глутамилтранспептидаза, пролиферативные процессы, предопухоловое состояние.

### INDUCTION OF S-METOLACHLOR PRENEOPLASTIC LIVER LESION IN RAT INITIATED CARCINOGENESIS BY NITROSODIETHYLAMINE

**Bahley Ye., Nedopytanska N., Lisovska V., Reshavska Ye., Tkachenko L.**

**Abstract.** A significant place among carcinogens of potential initiators of carcinogenesis in humans belongs to nitro so compounds. S-metolachlor widely used in growing crops.

*Objective.* To study the effect of S-metolachlor on the development of preneoplastic liver lesions in carcinogenesis initiated by nitrosodiethylamine (NDEA).

*Object and methods.* S-metolachlor. The experiments were performed on male Wistar Han rats, were given a single intraperitoneum injection of NDEA, 200 mg/kg, for initiated carcinogenesis. Two weeks after injection the of NDEA, S-metolachlor was administered by intragastrically to the animals of the experimental groups at doses of 1.5; 15 and 150 mg/kg bw for 8 weeks. Hepatectomy was performed 3 weeks after the start of the experiment. Animals from the negative control group received water, and positive – phenobarbital. During the experiment, clinical studies were conducted. Evaluated – the general condition of the animals, their weight and its increase. After necropsy, a macroscopic and histological examination was performed. Liver sections were analyzed for  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase ( $\gamma$ -GTP) expression. The numbers and areas of  $\gamma$ -GTP positive foci, which are biomarker for preneoplastic liver lesion, were determined by a special computer program.

*Results.* Clinical signs of toxic effects of S-metolachlor in rats, have not been established. Changes in liver mass in animals exposed to S-metolachlor were not detected. In rats treated with phenobarbital, an increase in the relative weight of the liver was found. An increase in the development of  $\gamma$ -GTP positive foci in the liver of animals treated with medium and high doses of S-metolachlor and phenobarbital was found. In animals that received a dose of 1.5 mg/kg S-metolachlor, the effect was absent.

*Conclusion.* S-metolachlor induces the development of preneoplastic lesions, enhancing the proliferation of transformed hepatocytes, and thus has a promoter effect in liver carcinogenesis initiated by NDEA in rats. The threshold nature of this effect is shown.

**Key words:** carcinogenesis, NDEA, S-metolachlor,  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase, proliferative processes, pre neoplastic lesions.

*Рецензент – проф. Старченко І. І.*

*Стаття надійшла 09.05.2019 року*