

ФИЗИОЛОГИЯ ВИСЦЕРАЛЬНЫХ СИСТЕМ

**НОРМАЛИЗАЦИЯ УГЛЕВОДНО-ЖИРОВОГО ОБМЕНА
КЛОФИБРАТОМ АССОЦИИРОВАНА С ОТСУТСТВИЕМ
ЕГО ПРОМОТИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ
НА ГЕПАТОКАНЦЕРОГЕНЕЗ У МЫШЕЙ**

© Н. В. Багинская, С. И. Ильницкая

Федеральный исследовательский центр Институт цитологии
и генетики Сибирского отделения РАН,
Новосибирск, Россия
E-mail: bagin@bionet.nsc.ru

Исследовали влияние хронического применения клофибрата на показатели углеводно-жирового обмена, уровень АлАТ и на промотирование опухолей печени, инициированных диэтилнитрозамином в 14-дневном возрасте у самцов мышей линий СЗН/Не и С57В1/6J. Установлено, что на фоне индуцированного гепатоканцерогенеза у 3-месячных мышей линии СЗН/Не клофибрат значительно повышал уровень АлАТ и глюкозы в крови, при этом в возрасте 7 месяцев у этих животных наблюдалось повышение количества и размеров опухолей печени. У мышей С57В1/6J в тех же условиях клофибрат нормализовал показатели углеводно-жирового обмена, снижая уровни триглицеридов и инсулина при неизменном уровне глюкозы в сыворотке крови. В 9-месячном возрасте у этих животных отсутствовало промотирующее влияние клофибрата на рост опухолей печени. Обсуждается возможность антиканцерогенного действия клофибрата за счет нормализации углеводно-жирового обмена веществ.

Ключевые слова: клофибрат, диэтилнитрозамин, мыши, углеводно-жировой обмен, гепатоканцерогенез.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 2. С. 164—173. 2018

N. V. Baginskaya, S. I. Ilmitskaya. CLOFIBRATE-MEDIATED NORMALIZATION OF LIPID AND CARBOHYDRATE METABOLISM IS ASSOCIATED WITH THE LACK OF ITS PROMOTING ACTION ON HEPATOCARCINOGENESIS IN MICE. Institute of Cytology and Genetics, The Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia, e-mail: bagin@bionet.nsc.ru.

The impact of chronic clofibrate application on the indicators of lipid and carbohydrate metabolism, serum ALT activity and the promotion of liver tumors initiated by a single diethylnitrosamine injection in 14 days old male mice of C3H/He and C57BL/6J mouse strains. It has been established that under induced hepatocarcinogenesis clofibrate significantly increased serum ALT activity and glucose level in 3-months old C3H/He mice, and significantly increased the number and size of liver tumors at the age of 7 months. Under the same conditions, clofibrate normalized indicators of carbohydrate and lipid metabolism, by reducing triglyceride and insulin levels at an invariable serum glucose level in C57BL/6J mice. In animals of this strain, there was no promoting effect of clofibrate on the growth of liver tumors at the age of 9 months. Data obtained demonstra-

te the existence of the relationship between the effect of clofibrate on carbohydrate and lipid metabolism and hepatocarcinogenesis. The possibility of an anti-carcinogenic action of clofibrate as a result of the normalization of carbohydrate and fat metabolism is discussed.

Key words: clofibrate, diethylnitrosamine, mice, carbohydrate and lipid metabolism, hepatocarcinogenesis.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 104. N 2. P. 164—173. 2018

Фибраты широко применяются в медицине в качестве гиполипидемических средств. Эти препараты относятся к группе пролифераторов пероксисом (ПП) и являются экзогенными лигандами ядерного рецептора, активируемого пролифераторами пероксисом-альфа (Peroxisome Proliferator Activated Receptor, PPAR α). Активация PPAR α вызывает нормализацию липидного и углеводного обмена, повышает чувствительность к инсулину [7, 23] и подавляет воспаление [4].

У грызунов введение ПП, наряду с гиполипидемическим действием вызывает гепатомегалию, пролиферацию пероксисом и индукцию ферментов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [14, 27]. Хроническое введение этих препаратов приводит к развитию опухолей печени [10, 20]. На животных, нокаутных по гену PPAR α , показано, что и гиполипидемический, и канцерогенный эффекты ПП определяются рецептором PPAR α . При этом окислительный стресс, вызванный индукцией ферментов ПОЛ, может быть одним из механизмов их канцерогенного действия [18, 27]. Другими факторами индуцированного ПП гепатоканцерогенеза являются стимуляция пролиферации и подавление апоптоза в клетках печени [15, 17, 20].

У человека, в отличие от грызунов, фибраты не вызывали активации пероксисомальных ферментов и развития опухолей печени. Выяснение различий является предметом интенсивных исследований в течение последних десятилетий. В ряде экспериментов на трансгенных животных с человеческим рецептором PPAR α было установлено, что пути метаболизма жирных кислот одинаково регулируются и человеческим (hPPAR α), и мышинным рецептором (mPPAR α), но гены, отвечающие за пролиферацию гепатоцитов, регулирует только mPPAR α [3, 10]. На этом основании делаются следующие выводы: 1) отсутствие канцерогенного действия ПП на человека во многом обусловлено особенностями рецептора hPPAR α [3]; 2) сигнальные пути клеточной пролиферации и гепатоканцерогенеза не зависят от путей контроля углеводно-жирового обмена [3, 26]. В настоящее время большинство исследователей полагает, что гепатоканцерогенное действие фибратов на человека маловероятно. Однако в последнее время появились сообщения о заметной активации ими пероксисомальных ферментов и у человека [21], что может иметь отношение к канцерогенному процессу. Поэтому необходимы дальнейшие исследования механизмов канцерогенного действия этих препаратов на экспериментальных моделях.

Если учесть, что метаболические нарушения, такие как ожирение, инсулинорезистентность, гиперинсулинемия и метаболический синдром, стимулируют канцерогенез [8, 22], то способность фибратов вызывать опухоли печени у грызунов находится в противоречии с их гиполипидемическим и нормализующим обмен веществ действием. Для разрешения этого противоречия необходима совместная оценка изменений показателей углеводно-жирового обмена и развития опухолей. Однако только в единичных исследованиях оценивается взаимосвязь гиполипидемического действия фибратов с их канцерогенным эффектом [6]. Применение фибратов на фоне индуцированного гепатоканцерогенеза дает дополнительные преимущества для таких исследований: значительное ускорение гепатоканцерогенеза при неизменности молекулярных процессов, происходящих в печени под влиянием фибратов [16].

Целью данной работы было выявление взаимоотношений между регуляцией углеводно-жирового обмена и гепатоканцерогенным действием гиполипидеми-

ческого препарата клофибрата. Для этого у мышей линий, различающихся по чувствительности к гепатоканцерогенезу, была проведена параллельная оценка влияния хронического введения клофибрата на показатели углеводно-жирового обмена и на развитие опухолей печени, инициированных введением диэтилнитрозамина (ДЭНА).

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В экспериментах использовали инбредные линии мышей, различающиеся по гепатоканцерогенному действию ДЭНА и ПП, — чувствительная линия СЗН/Не (СЗН) и резистентная — С57В1/6J (С57В1) [9, 12]. Все эксперименты производили в соответствии с рекомендациями, приведенными в руководстве по уходу и использованию лабораторных животных Национальных институтов здравоохранения (протокол № 17.3 от 17 июня 2013 г. Комиссии по биоэтике). В 2-недельном возрасте мышатам-самцам однократно вводили ДЭНА («Serva», Германия) внутривентриально, в дозе 50 мг/кг массы тела. В месячном возрасте животных отсаживали от матери и далее содержали в клетках по 6—8 особей в стандартных условиях вивария, где они получали стандартный комбикорм ПК 120-1 («Лабораторснаб», Москва) и воду *ad libitum*. Начиная с 2-месячного возраста часть животных, индуцированных введением ДЭНА (опытная группа), стала получать комбикорм с 0.1%-ным содержанием клофибрата («Serva», Германия), остальные животные, индуцированные ДЭНА, содержались на стандартной диете (контрольная группа). Группа интактных животных не получала никаких дополнительных воздействий. Доза клофибрата 0.1 % не является гепатоканцерогенной для мышей, но промотирует опухоли печени, инициированные ДЭНА [2, 12]. В 3-месячном возрасте часть животных каждой группы забивали для определения показателей обмена веществ: концентрации глюкозы, триглицеридов и инсулина в сыворотке крови. Кроме того, у этих животных определяли индекс печени (отношение веса печени к весу тела в %) и уровень активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) в крови для оценки степени токсического влияния на клетки печени. Остальные животные продолжали содержаться в тех же условиях еще в течение 4—6 месяцев до развития видимых опухолей печени.

Концентрацию глюкозы, триглицеридов и ЛВП-холестерина определяли энзиматическими методами с помощью наборов реактивов В-8039, В-8048 и В-8024 фирмы «Вектор-Бест» (Новосибирск). Концентрацию инсулина определяли радиоиммунным методом с помощью набора реактивов рио-ИНС-ПГ-125I (Беларусь). Концентрацию АлАТ в сыворотке крови определяли с помощью набора В-8016 («Вектор-Бест», Новосибирск). Количество и размеры опухолей и предопухолевых узелков в печени подсчитывали визуально под бинокулярной лупой с помощью окуляр-микрометра на увеличении $\times 2$. При этом отдельно подсчитывали узлы размером ≥ 2 мм, представляющие собой истинные опухоли, и < 2 мм, состоящие преимущественно из атипичных узлов и фокусов клеток. Для гистологической оценки брали часть левой доли печени толщиной около 5 мм, фиксировали в 10%-ном формалине и заливали в парафин по стандартной методике. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Полученные гистологические препараты анализировали с использованием световой микроскопии в ЦКП микроскопического анализа ИЦиГ СО РАН на микроскопе Axioskop 2 plus с помощью цифровой камеры AxioCam MRm и программы AxioVision (фирма Zeiss).

Статистическую обработку результатов производили с помощью программы Excel 2010. В каждой группе животных определяли среднее значение показателей и ошибку среднего ($M \pm m$). Достоверность различий между средними оценивали по *t*-критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Эффект клофибрата на показатели обмена веществ у интактных животных. У обеих линий мышей применение диеты с 0.1%-ным содержанием клофибрата в течение 1 месяца не вызвало значительных изменений показателей липидного обмена, за исключением повышения ЛВП холестерина (табл. 1), что является показателем улучшения липидного спектра крови. В этом эксперименте мы не наблюдали повышения уровня активности АлАТ в крови, что указывает на отсутствие токсического действия этого препарата на клетки печени. Мы также не наблюдали развития гепатомегалии у этих животных, более того, что у обеих линий наблюдалось снижение веса печени (табл. 1). Как известно, увеличение веса печени является одним из характерных признаков действия фибратов на грызунов, однако при низких дозах этот эффект может и не наблюдаться. Так, скормливание мышам в течение 4 недель корма с содержанием 0.125 % клофибрата не вызывает гепатомегалию у мышей, и только при 0.25 % содержании увеличение веса печени становится достоверным [19].

Эффект клофибрата на показатели обмена веществ на фоне введения ДЭНА. У животных обеих линий в 3-месячном возрасте не было обнаружено признаков токсического влияния неонатального введения ДЭНА на печень: индекс печени и активность АлАТ в крови не отличались от значений этих показателей у интактных животных (табл. 2). Однако у мышей линии СЗН, получивших инъекцию ДЭНА, наблюдалось значительное, более чем на 50 % повышение концентрации триглицеридов в крови (табл. 2). Такая же тенденция была отмечена и у животных С57В1: уровень триглицеридов повысился на 25 % ($p < 0.06$), кроме того, у них на 25 % повысился и уровень инсулина в крови ($p < 0.1$). Таким образом, уже на ранней стадии ДЭНА-индуцированного гепатоканцерогенеза у обеих линий мышей наблюдались признаки нарушения липидного обмена, что может выступать в качестве дополнительного канцерогенного фактора.

Применение клофибрата на фоне введения ДЭНА у мышей С57В1 привело к значительному увеличению индекса печени без повышения активности АлАТ в крови (табл. 2). Таким образом, гипертрофия печени, происходящая в основном за счет пролиферации гепатоцитов под воздействием ПП [20], не сопровождалась токсическим повреждением клеток печени. Кроме того, у этих животных было отмечено значительное снижение уровней триглицеридов и инсулина в крови по

Т а б л и ц а 1

Влияние применения клофибрата в течение 1 месяца на вес тела, индекс печени и биохимические показатели сыворотки крови у 3-месячных мышей линий С57В1 и СЗН

| Показатель | Линия мышей | | | |
|-------------------------|-------------|------------------------|-------------|--------------|
| | С57В1 | | СЗН | |
| | Интактные | Клофибрат ^а | Интактные | Клофибрат |
| Вес тела, г | 28.2 ± 0.6 | 28.8 ± 0.7 | 25.1 ± 1.2 | 27.6 ± 0.9 |
| Индекс печени, % | 4.8 ± 0.1 | 4.1 ± 0.1* | 4.8 ± 0.3 | 4.2 ± 0.1* |
| Триглицериды, ммоль/л | 1.09 ± 0.04 | 1.27 ± 0.15 | 0.95 ± 0.11 | 1.5 ± 0.25 |
| ЛВП холестерин, ммоль/л | 1.16 ± 0.09 | 1.65 ± 0.13** | 1.50 ± 0.13 | 1.90 ± 0.04* |
| Инсулин, ммоль/л | 62.6 ± 8.6 | 92.0 ± 23.1 | 82.3 ± 11.2 | 82.7 ± 8.0 |
| Активность АлАТ, Ед/л | 55 ± 3.3 | 38 ± 3.3* | 49 ± 5.8 | 56 ± 4.0 |
| Количество животных | 15 | 6 | 5 | 4 |

Примечание. ^а группа животных, получавших клофибрат в дозе 0.1 % с кормом в течение месяца, начиная с 2-месячного возраста. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ — достоверность различий по *t*-критерию Стьюдента.

Т а б л и ц а 2

Влияние однократного введения ДЭНА в раннем онтогенезе и хронического применения клофибрата на вес тела, индекс печени и биохимические показатели сыворотки крови у 3-месячных мышей С57В1 и С3Н

| Показатель | Линия мышей | | | | | |
|-----------------------|-------------|-----------------------|------------------------|-------------|-----------------------|-------------------------|
| | С57В1 | | | С3Н | | |
| | Интактные | Контроль ^а | Клофибрат ^в | Интактные | Контроль ^а | Клофибрат ^в |
| Вес тела, г | 26.7 ± 0.9 | 25.8 ± 0.7 | 24.0 ± 0.5 | 25.1 ± 0.6 | 21.3 ± 1.0 | 24.1 ± 2.4 |
| Индекс печени, % | 4.8 ± 0.1 | 5.1 ± 0.2 | 5.6 ± 0.2*† | 6.0 ± 0.16 | 5.7 ± 0.3 | 5.4 ± 0.3 |
| Триглицериды, ммоль/л | 1.38 ± 0.11 | 1.72 ± 0.17 | 1.33 ± 0.08* | 1.06 ± 0.04 | 1.68 ± 0.16 †† | 2.0 ± 0.48† |
| Инсулин, ммоль/л | 70.4 ± 7.0 | 88.5 ± 8.2 | 69.7 ± 5.4* | 74 ± 8 | 65 ± 17 | 75 ± 14 |
| Глюкоза, ммоль/л | 6.7 ± 0.3 | 6.4 ± 0.3 | 6.1 ± 0.4 | 6.4 ± 0.3 | 5.7 ± 0.3 | 6.8 ± 0.4* ⁰ |
| Активность АлАТ, Ед/л | 57 ± 3.3 | 65 ± 5.0 | 52 ± 1.7 | 72 ± 11.7 | 61 ± 4.3 | 112 ± 29* |
| Количество животных | 11 | 12 | 11 | 10 | 9 | 7 |

Примечание. ^а Контрольная группа мышей, получивших однократную инъекцию ДЭНА в раннем онтогенезе; ^в Животные, получавшие однократную инъекцию ДЭНА в раннем онтогенезе, затем, начиная с 2-месячного возраста, клофибрат (0.1 % в составе корма) в течение месяца. ⁰ $p = 0.054$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ — достоверность различий по сравнению с контролем. † $p < 0.05$, †† $p < 0.01$ — достоверность различий по сравнению с интактными животными.

сравнению с контролем (табл. 2). Все это соответствует данным литературы о развитии гипертрофии печени и нормализации липидного обмена у мышей при использовании ПП [5, 11]. Отметим, что значительное снижение уровня инсулина у мышей С57В1 при нормальном уровне глюкозы является косвенным свидетельством повышения чувствительности к инсулину у этих животных [7]. Таким образом, у мышей линии С57В1 клофибрат на фоне неонатального введения ДЭНА улучшал ряд показателей углеводно-жирового обмена и не оказывал токсического влияния на клетки печени.

В отличие от С57В1, у мышей С3Н клофибрат не увеличивал индекс печени и не влиял на уровень инсулина в крови (табл. 2). Концентрация триглицеридов в крови, повышенная у животных, индуцированных введением ДЭНА (контроль), не снизилась под воздействием клофибрата и была значительно выше, чем у интактных животных (табл. 2). Следовательно, клофибрат не оказал гиполлипидемического действия на мышей линии С3Н, в отличие от линии С57В1. Кроме того, у мышей С3Н клофибрат приводил к заметному повышению уровня глюкозы в крови по сравнению с контролем (табл. 2), что косвенно указывает на развитие у них инсулинорезистентности. К тому же, у этих животных наблюдалось почти 2-кратное повышение активности АлАТ в крови (табл. 2), что свидетельствует о гепатотоксическом действии препарата уже на ранних стадиях гепатоканцерогенеза. Через месяц применения клофибрата на фоне введения ДЭНА у мышей С3Н были отмечены признаки токсического поражения печени и не наблюдалось признаков улучшения показателей обмена веществ.

Возникает вопрос, чем могут быть вызваны столь явные межлинейные различия эффекта применения клофибрата? Предположение о том, что они могут быть вызваны повышенной дозой препарата, маловероятно. Действительно, содержание препарата в корме было постоянным, а потребляемое количество корма до-

стоверно не различалось между линиями, составляя в среднем 125 ± 2 г/кг/сутки у C57Bl и 132 ± 9 у C3H. Наиболее вероятным объяснением служит существование генетических различий по реакции животных на этот препарат. Так, ранее было установлено, что степень активации пероксисомальных ферментов в ответ на введение ПП может значительно варьировать между линиями мышей и крыс [14]. Мы полагаем, что токсическое действие клофибрата на печень мышей C3H объясняется более значительным, чем у C57Bl, повышением активных форм кислорода (АФК), приводящим к развитию окислительного стресса в клетках печени [18, 25] в результате либо повышенной активации окислительных ферментов, либо относительной слабости антиоксидантных систем. Повышение АФК и окислительный стресс приводят к нарушению функций печени, развитию инсулинорезистентности и нарушений углеводно-жирового обмена [25]. Вследствие таких нарушений у мышей C3H не проявляется гипополипидемический эффект клофибрата.

Влияние клофибрата на гепатоканцерогенез (ГК), инициированный неонатальным введением ДЭНА. По окончании эксперимента у контрольных и опытных животных опухоли печени развивались в 100 % случаев, тогда как у интактных животных опухоли печени отсутствовали в обеих линиях. Клофибрат на фоне введения ДЭНА приводил к ускоренной гибели мышей линии C3H, вызванной его токсическим действием. В связи с этим для оценки количества и размеров опухолей эти животные и их контроль были забиты в возрасте 7 месяцев, т. е. на 2 месяца раньше запланированного срока. Кроме того, была взята дополнительная контрольная группа мышей C3H возрастом 9 месяцев. Все мыши линии C57Bl были забиты в 9-месячном возрасте.

Все опухоли состояли из паренхимных клеток печени и представляли собой гепатомы (аденомы), гепатокарциномы и аденокарциномы. В обеих линиях мышей наблюдались пренеопластические узелки и фокусы, состоящие из атипичных базофильных, либо эозинофильных клеток. У мышей C57Bl преобладали опухоли трабекулярной структуры, состоящие из крупных эозинофильных клеток с выраженной гетерогенностью гепатоцитов и их ядер. В гепатоцитах наблюдались многочисленные включения преимущественно в виде липидных капель, которые иногда занимали почти всю площадь цитоплазмы клеток (рис. 1, а, б). У мышей C3H в основном наблюдались мелкоклеточные опухоли трабекулярной структуры, причем трабекулы часто были утолщены и образованы 2—3 рядами клеток, синусоиды местами значительно расширены, крупных включений в гепатоцитах не наблюдалось (рис. 1, в, г). Реже у этих животных наблюдались также опухоли, состоящие из крупных эозинофильных клеток, иногда эти клетки содержали мелкие жировые включения. Клофибрат не изменял морфологические особенности строения опухолей печени, характерные для исследуемых линий мышей (рис. 1, а, в). Митозы наблюдались во всех исследованных группах только в клетках опухолей.

Ранее нами было показано, что промотирующее влияние орто-аминоазотуола (ОАТ) на ДЭНА-инициированный гепатоканцерогенез сопровождается значительным увеличением воспалительных инфильтратов и овально-клеточных пролифератов в ткани печени [1]. В отличие от ОАТ, промотирующее действие клофибрата не вызывало подобных изменений (как исключение, лишь у одного животного линии C3H были обнаружены перипортальные инфильтраты). Различия в действии ОАТ и клофибрата на ткань печени могли быть вызваны тем, что клофибрат, активируя рецептор PPAR α , подавляет воспаление, снижая экспрессию многих провоспалительных транскрипционных факторов, в том числе NF- κ B [4, 21].

Клофибрат значительно усиливал (промотировал) гепатоканцерогенез у мышей C3H, повышая количество опухолей по сравнению как с 7-месячным, так и с 9-месячным контролем (рис. 2). Это свидетельствует о том, что клофибрат не только ускоряет, но и усиливает образование опухолей у этих животных. В отли-

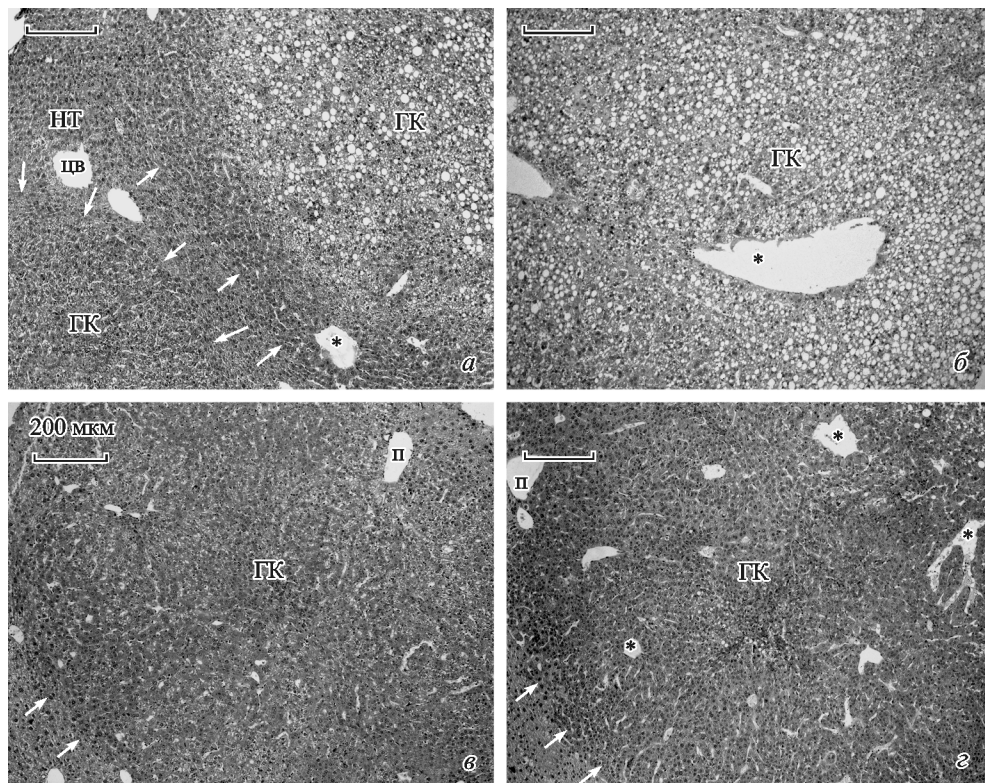


Рис. 1. Морфология опухолей печени у мышей С3Н и С57В1.

Верхний ряд — линия С57В1, *нижний ряд* — линия С3Н. *а, б* — группы животных, получавшие ДЭНА в раннем онтогенезе и 0.1 % клофибрат в составе корма начиная с 2-месячного возраста. *б, г* — группы животных, получавшие только ДЭНА в раннем онтогенезе. ГК — гепатокарцинома; НТ — нормальная ткань печени; п — портальный тракт; ЦВ — центральная вена. * кровеносные сосуды в ткани опухоли. Стрелками указаны границы опухоли. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение объектива $\times 10$, отрезок — 200 мкм.

чие от С3Н, у мышей С57В1 не было обнаружено промотирующего действия клофибрата на рост опухолей: ни индекс печени, ни количество крупных опухолей, ни общее количество узелков и опухолей достоверно не отличались от контроля (рис. 2). Наши результаты находятся в соответствии с данными G. H. Lee и соавт. [12], полученными на модели 2-стадийного гепатоканцерогенеза, индуцированного введением ДЭНА, о повышенной чувствительности мышей линии С3Н по сравнению с С57В1, к промотирующему действию клофибрата.

Отсутствие промотирующего эффекта клофибрата у мышей С57В1 наблюдалось несмотря на то, что эти животные получили большую суммарную дозу препарата, чем С3Н (в среднем 650 мг/мышь для С57В1 и 440 мг/мышь для С3Н). Это подтверждает предположение о существовании генетических различий по данному признаку. Конкретный механизм относительной устойчивости С57В1 неизвестен, но можно предполагать, что он связан с меньшей выраженностью окислительного стресса как основного фактора гепатоканцерогенного действия ПП [27]. Кроме того, на основании наших данных можно полагать, что нормализация углеводно-жирового обмена является дополнительным фактором, снижающим гепатоканцерогенный эффект клофибрата. Таким образом, наши данные находятся в русле предположения об отсутствии гепатоканцерогенного действия фибратов на человека, поскольку твердо установленное гипополипидемическое

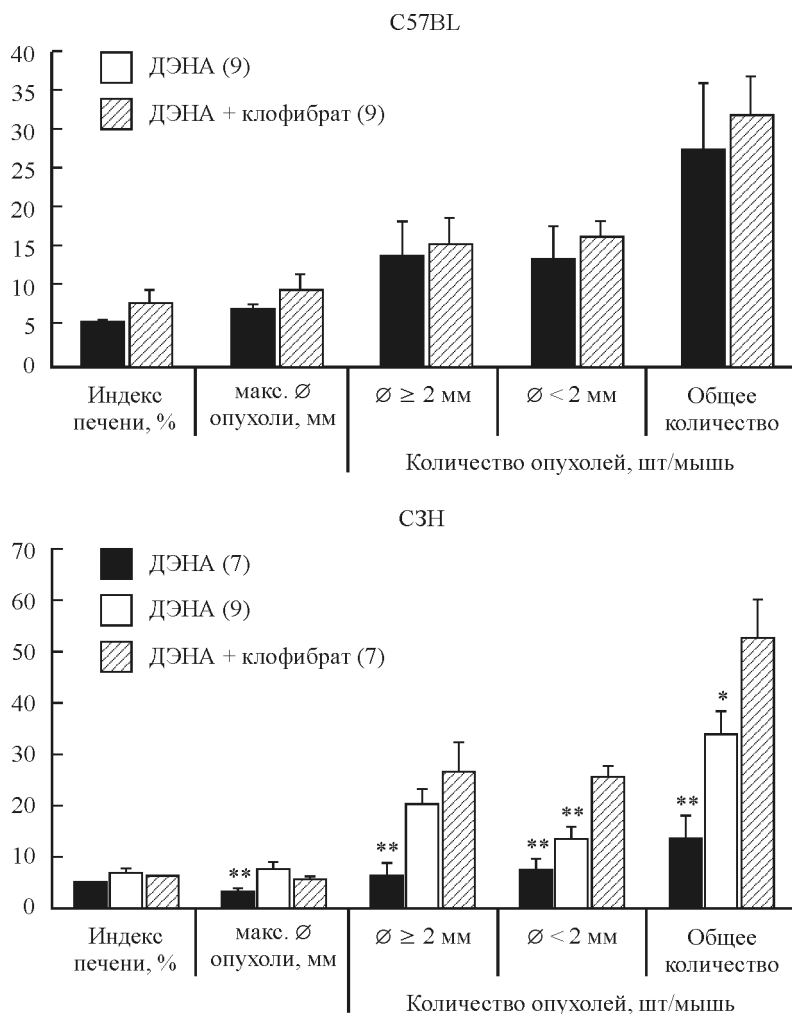


Рис. 2. Влияние хронического применения клофибрата на ДЭНА-индуцированный гепато-канцерогенез у мышей линий C57Bl и C3H.

Группы животных: ДЭНА — животные получали однократную инъекцию ДЭНА в раннем онтогенезе; ДЭНА+клофибрат — животные получали однократную инъекцию ДЭНА и начиная с 2-месячного возраста 0.1 % клофибрат в составе корма. В скобках указан возраст животных (в месяцах) на момент забоя. Количество животных в группах составляло 5—7 особей. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ — достоверность отличий от группы ДЭНА+ клофибрат.

действие фибратов на человека приведет скорее к антиканцерогенному действию, чем к его стимуляции. Это предположение подтверждается не только данными мета-анализа о снижении риска развития гепатокарциномы у пациентов, использующих гиполипидемические препараты [24], но и данными о значительном нарушении метаболизма липидов при развитии гепатокарцином [13].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные позволяют прийти к следующим выводам:

1. Применение клофибрата (0.1 % в составе корма) в течение 1 месяца в равной степени улучшает липидный спектр крови у интактных мышей линий C57BL/6J и C3H/He.

2. Такое же применение клофибрата на фоне однократного введения ДЭНА в раннем онтогенезе оказывает разнонаправленное действие на мышей обеих линий: нормализующее действие на показатели липидного обмена у мышей линии C57BL/6J и отсутствие его с одновременным гепатотоксическим действием у мышей C3H/He.

3. Промотирующее действие клофибрата на ДЭНА-индуцированный гепатоканцерогенез наблюдается только у мышей линии C3H/He.

На основании анализа полученных данных и данных литературы полагаем, что нормализация углеводно-жирового обмена фибратами способна влиять на выраженность канцерогенного процесса у грызунов.

Работа выполнена в рамках государственного задания по базовому бюджетному проекту «Молекулярно-генетические основы регуляции экспрессии генов, морфологии, дифференцировки и перепрограммирования клеток» (№ 0324-2016-0003).

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Багинская Н. В., Ильницкая С. И., Никитенко Е. В., Каледин В. И. Промотирующее влияние ортоаминоазотолуола на гепатоканцерогенез сопровождается усилением воспалительных и пролиферативных процессов в ткани печени и снижением концентрации свободного тироксина в крови. Бюл. эксперим. биологии и медицины. 144(12): 672—675. 2007.
- [2] Aoki T., Imai T., Ando T., Dodo T., Kerns W. D., Tsukidate K. Effects of Clofibrate in the CB6F1-TgHras2 Mice. J. Toxicol Pathol. 15(2): 111—118. 2002.
- [3] Cheung C., Akiyama T. E., Ward J. M., Nicol C. J., Feigenbaum L., Vinson C., Gonzalez F. J. Diminished Hepatocellular Proliferation in Mice Humanized for the Nuclear Receptor Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α . Cancer Res. 64(11): 3849—3854. 2004.
- [4] Chinetti G., Fruchart J. C., Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptors and inflammation: from basic science to clinical applications. Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. 27 (Suppl 3): S41—S45. 2003.
- [5] Chou C. J., Haluzik M., Gregory C., Dietz K. R., Vinson C., Gavrilova O., Reitman M. L. WY14. 643, a peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR α) agonist, improves hepatic and muscle steatosis and reverses insulin resistance in lipotrophic A-ZIP/F-1 mice. J. Biol. Chem. 277(27): 24484—24489. 2002.
- [6] Cunningham M. L., Collins B. J., Hejtmancik M. R., Herbert R. A., Travlos G. S., Valiant M. K., Stout M. D. Effects of the PPAR α Agonist and Widely Used Antihyperlipidemic Drug Gemfibrozil on Hepatic Toxicity and Lipid Metabolism. PPAR Res. 2010: 681963. 2010.
- [7] Haluzik M. M., Haluzik M. PPAR-alpha and insulin sensitivity. Physiol. Res. 55(2): 115—122. 2006.
- [8] Hsu I. R., Kim S. P., Kabir M., Bergman R. N. Metabolic syndrome, hyperinsulinemia, and cancer. Am. J. Clin Nutr. 86(3): 867—871. 2007.
- [9] Goldsworthy T. L., Fransson-Steen R. Quantitation of the Cancer Process in C57BL/6J, B6C3F1 and C3H/HeJ Mice. Toxicol. Pathol. 30(1): 97—105. 2002.
- [10] Gonzalez F. J., Shah Y. M. PPAR α : Mechanism of species differences and hepatocarcinogenesis of peroxisome proliferators. Toxicol. 246(1): 2—8. 2008.
- [11] Kersten S. Peroxisome proliferator activated receptors and lipoprotein metabolism. PPAR Res. 2008: 132960. 2008.
- [12] Lee G. H., Nomura K., Kitagawa T. Comparative study of diethylnitrosamine-initiated two-stage hepatocarcinogenesis in C3H, C57BL and BALB mice promoted by various hepatopromoters. Carcinogenesis. 10 (12): 2227—2230. 1989.

[13] *Lee S., Mardinoglu A., Zhang C., Lee D., Nielsen J.* Dysregulated signaling hubs of liver lipid metabolism reveal hepatocellular carcinoma pathogenesis. *Nucl. Acids Res.* 44(12): 5529—5539. 2016.

[14] *Lundgren B., DePierre J. W.* Proliferation of peroxisomes and induction of cytosolic and microsomal epoxide hydrolases in different strains of mice and rats after dietary treatment with clofibrate. *Xenobiotica.* 19(8): 867—881. 1989.

[15] *Ma X., Stoffregen D. A., Wheelock G. D., Rininger J. A., Babish J. G.* Discordant hepatic expression of the cell division control enzyme p34cdc2 kinase, proliferating cell nuclear antigen, p53 tumor suppressor protein, and p21Waf1 cyclin-dependent kinase inhibitory protein after WY14,643 ([4-chloro-6-(2,3-xylylidino)-2-pyrimidinylthio]acetic acid) dosing to rats. *Mol. Pharmacol.* 51(1): 69—78. 1997.

[16] *Michel C., Desdouets Ch., Slaoui M., Isaacs K. R., Roberts R. A., Boitier E.* Diethylnitrosamine Initiation Does Not Alter Clofibrin Acid—Induced Hepatocarcinogenesis in the Rat. *Toxicol. Sci.* 99(1): 58—69. 2007.

[17] *Miller R. T., Glover S. E., Stewart W. S., Corton J. C., Popp J. A., Cattley R. C.* Effect on the expression of c-met, c-myc and PPAR- α in liver and liver tumors from rats chronically exposed to the hepatocarcinogenic peroxisome proliferator WY-14, 643. *Carcinogenesis.* 17(6): 1337—1341. 1996.

[18] *Misra P., Reddy J. K.* Peroxisome proliferator-activated receptor- α activation and excess energy burning in hepatocarcinogenesis. *Biochimie.* 98: 63—74. 2014.

[19] *Moody D. E., Reddy J. K.* The hepatic effects of hypolipidemic drugs (clofibrate, nafepin, tibrac acid, and Wy-14,643) on hepatic peroxisomes and peroxisome-associated enzymes. *Am. J. Pathol.* 90(2): 435—446. 1978.

[20] *Peters J. M., Cattley R. C., Gonzalez F. J.* Role of PPAR alpha in the mechanism of action of the nongenotoxic carcinogen and peroxisome proliferator Wy-14.643. *Carcinogenesis.* 18(11): 2029—2033. 1997.

[21] *Rakhshandehroo M., Hooiveld G., Müller M., Kersten S.* Comparative analysis of gene regulation by the transcription factor PPARalpha between mouse and human. *PLoS One.* 4(8): e6796. 2009.

[22] *Sasaki Y.* Insulin resistance and hepatocarcinogenesis. *Clinical Journal of Gastroenterol.* 3(6): 271—278. 2010.

[23] *Schoonjans K., Staels B., Auwerx J.* Role of the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) in mediating the effects of fibrates and fatty acids on gene expression. *J. Lipid Res.* 37(5): 907—925. 1996.

[24] *Singh S., Singh P. P., Singh A. G., Murad M. H., Sanchez W.* Statins are associated with a reduced risk of hepatocellular cancer: a systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology.* 144(2): 323—332. 2013.

[25] *Tangvarasittichai S.* Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *World J. Diabetes.* 6(3): 456—480. 2015.

[26] *Yang Q., Nagano T., Shah Y., Cheung C., Ito S., Gonzalez F. J.* The PPAR alpha-humanized mouse: a model to investigate species differences in liver toxicity mediated by PPAR alpha. *Toxicol. Sci.* 101(1):132—139. 2008.

[27] *Yeldandi A. V., Rao M. S., Reddy J. K.* Hydrogen peroxide generation in peroxisome proliferator-induced oncogenesis. *Mutat. Res.* 448(2): 159—177. 2000.

Поступила 4 X 2017
После доработки 28 XI 2017