

MAŁGORZATA M. DOBRZYŃSKA

**SPRAWOZDANIE Z POBYTU NA STYPENDIACH W BIBRA
INTERNATIONAL (ANGLIA) I NA WYDZIALE BIOLOGII
UNIwersYTETU W PADWIE (WŁOCHY)**

Zakład Ochrony Radiologicznej i Radiobiologii, Państwowy Zakład Higieny
00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24

Autorka sprawozdania przebywała w BIBRA Toxicology International na rocznym stypendium (październik 1995 – październik 1996) w ramach The Royal Society Polish Post Doctoral Fellowship Programme, finansowanym przez Royal Society oraz na Wydziale Biologii Uniwersytetu w Padwie (listopad 1996 – lipiec 1997) na stypendium dla cudzoziemców z krajów Europy Środkowej, Bałkanów, byłego Związku Radzieckiego i Austrii.

British Industrial Biological Research Association (BIBRA Toxicology International) powstała w 1960 roku z funduszy rządowych i przemysłowych w celu promocji prac naukowych, szczególnie w dziedzinie toksykologii. Obecnie jest znanym na świecie centrum naukowym i doświadczalnym. Instytut jest finansowany przez rząd brytyjski, Royal Society i przemysł, część funduszy na badania pochodzi także z grantów i kontraktów.

BIBRA bierze także udział w badaniach sponsorowanych przez Unię Europejską w ramach programów międzynarodowych. Naukowcy współpracują z innymi zespołami z Wielkiej Brytanii, Irlandii, Francji, Hiszpanii, Holandii, Niemiec, Danii i USA. Głównym tematem badań naukowych jest ocena ryzyka występowania nowotworów u ludzi w związku z ekspozycją na czynniki, które są kancerogenne dla gryzoni. Badania dotyczą głównie związków zawartych w żywności, które są w małych ilościach uwalniane podczas jej obróbki termicznej (szczególnie gotowanie i smażenie mięs) oraz związków zanieczyszczających środowisko. Badania prowadzone są na zwierzętach lub hodowlach komórek.

Prowadzone są także badania dotyczące uszkodzeń genetycznych w populacji ludzkiej pod wpływem związków chemicznych obecnych w środowisku lub w miejscu pracy. Prowadzi się także badania kliniczne dotyczące wpływu diety, a także niektórych leków i kosmetyków na organizm ludzki.

Uniwersytet Padewski został założony w 1222 roku, obecnie posiada 13 wydziałów i nadaje tytuły naukowe we wszystkich dziedzinach. Pracuje tam około 2200 profesorów i pracowników naukowych oraz studiuje około 65000 studentów.

Na Wydziale Biologii Uniwersytetu w Padwie, oprócz działalności dydaktycznej prowadzi się szereg prac naukowych, również w ramach międzynarodowych programów sponsorowanych przez Unię Europejską. Bada się uszkodzenia DNA oraz ich reperację w krwi obwodowej ludzi i w liniach komórkowych ssaków. Prowadzi się dozymetrię

uszkodzeń DNA u ludzi eksponowanych na środowiskowe substancje genotoksyczne. Bada się uszkodzenia chromosomów przez związki chemiczne w komórkach somatycznych i rozrodczych ssaków *in vivo*. Ocenia się także pochodzenie mikrojąder na podstawie obecności telomerów i centromerów lub specyficznych oligomerów.

Głównym przedmiotem programów badawczych autorki, zarówno w BIBRA Toxicology International, jak i na Uniwersytecie w Padwie, były doświadczenia dotyczące wpływu 1,3-butadienu oraz jego metabolitów, 1,2-epoksybutenu i 1,2,3,4-diepoksybutanu na komórki somatyczne i rozrodcze myszy i szczurów. Oprócz tego autorka brała udział w różnorodnych badaniach naukowych współpracując z naukowcami z różnych krajów.

1,3-butadien jest produktem przemysłu gumowego oraz składnikiem zanieczyszczającym środowisko. Występuje w spalinach samochodowych i dymie papierosowym. Indukuje powstawanie nowotworów u zwierząt laboratoryjnych. Uszkadza komórki rozrodcze i indukuje wady wrodzone u potomstwa zwierząt eksponowanych. Badania, w których autorka sprawozdania brała udział podczas pobytu w Anglii, dotyczyły indukcji uszkodzeń DNA w komórkach somatycznych i rozrodczych mierzonych testem kometkowym oraz uszkodzeń chromosomów w szpiku kostnym mierzonych testem mikrojądrowym u myszy szczepu CD-1 i szczurów szczepu *Sprague-Dawley*, a także niekontrolowanej syntezy DNA *in vivo* (test UDS) w komórkach rozrodczych samców myszy. W przypadku ekspozycji na butadien myszy poddawane były inhalacji gazu przez 4 tygodnie, 5 dni/tydzień, 6 godzin/dzień, natomiast 1,2-epoksybuten i 1,2,3,4-diepoksybutan były podawane w jednorazowej iniekcji. Stwierdzono międzygatunkowe różnice we wrażliwości na butadien i jego metabolity. Butadien nie indukował uszkodzeń DNA mierzonych testem kometkowym. 1,2,3,4-diepoksybutan okazał się mutageny jedynie w szpiku kostnym myszy i szczurów. 1,2-epoksybuten indukował uszkodzenia DNA w komórkach rozrodczych samców myszy oraz szpiku kostnym szczurów. U obu gatunków oba metabolity powodują powstawanie mikrojąder, ale bardziej mutageny okazał się 1,2,3,4-diepoksybutan. W teście niekontrolowanej syntezy DNA w jądrach myszy stwierdzono efekt tylko po ekspozycji na 1,2,3,4-diepoksybutan (1). Wyniki tych badań przedstawione były podczas Kongresu European Environmental Society w Rzymie (3–6 września 1996). Pobyt autorki na Kongresie sfinansowany był również przez Royal Society. Podczas pobytu na Uniwersytecie w Padwie autorka brała udział w badaniach dotyczących indukcji i pochodzenia mikrojąder w spermatydach myszy szczepu (102/E1xC3H/E1JF1) po 5-dniowej inhalacji butadienu (6 godzin dziennie) lub jednorazowej iniekcji 1,2,3,4-diepoksybutanu. Stwierdzono występowanie mikrojąder w spermatydach 14 dni po zakończeniu ekspozycji na butadien oraz zarówno w 2, jak i 16 dniu po podaniu diepoksybutanu. Po ekspozycji na butadien stwierdzono 15% mikrojąder pochodzących z całych chromosomów, podczas gdy po działaniu diepoksybutanu było ich dwa razy więcej [8]. Wyniki tych badań były prezentowane podczas międzynarodowego seminarium „Biomarkers in monitoring of occupational and environmental exposure to organic genotoxic substances” w Ustroniu (23–24 października 1997).

W BIBRA Toxicology International prowadzono także badania modulującego efektu flawonoidów (sylimaryna, myrycetyna, kwercetyna, kamferol, rutyna, rutynozyd kamferolu) na uszkodzenia indukowane przez mutageny zawarte w żywności (3-amino-1-metylo-5H-pyrimidililo-(4,3-b)-indol (Trp), 2-amino-1-metylo-6-fenyl-imadazolilo-

(4,5-b)-pirydyna (PhIP), 2-amino-3-metylo-imidazilo-(4,5-f)-chinolina (IQ) oraz doksorubicynę. Wszystkie wymienione związki powodują uszkodzenia DNA. Jednakże w skojarzeniu z IQ, Trp i Phip, flawonoidy wykazują właściwości antygenotoksyczne, zmniejszając uszkodzenia DNA mierzone testem kometkowym zarówno w limfocytach, jak i w nasieniu ludzkim *in vitro*. Jedyne po skojarzeniu mutagenów żywnościowych z flawanoidami w najniższych dawkach obserwowano czasem nieznaczny synergizm. Efekt ochronny indukowany przez flawonoidy w stosunku do uszkodzeń DNA indukowanych przez mutageny żywnościowe mierzony testem kometkowym był podobny w komórkach somatycznych i rozrodczych. Skojarzenie doksorubicyny i silymaryny indukowało efekt synergistyczny w teście aberracji chromosomowych. Skojarzenie Trp oraz IQ z silymaryną i myrcetyną w najwyższych dawkach powodowało zmniejszenie częstości występowania rewertantów w teście *Amesa* [2,3,4].

W ciągu ostatnich 50 lat stwierdzono zmniejszanie się liczby plemników u mężczyzn. Fakt ten tłumaczono zwiększoną obecnością estrogenów w środowisku. Przeprowadzono badania wpływu estrogenów (dietylstylbester, β -estradiol, daidzein, genistein, nonylofenyl) na indukcję uszkodzeń DNA w nasieniu ludzkim oraz limfocytach ludzkich z krwi kobiet i mężczyzn.

Otrzymane wyniki badań porównano z efektami działania innych związków chemicznych, będących znanymi mutagenami (związki ołowiu, 1,2-epoksybuten, 1,2,3,4-diepoksybutan, dwuchlorobromopropan i 2-metoksyetanol). Wszystkie związki indukowały uszkodzenia komórek. 2-metoksyetanol uszkadza jedynie nasienie, które jest także bardziej wrażliwe niż limfocyty na działanie fitoestrogenów (daidzein, genistein). Może to świadczyć o większej wrażliwości nasienia oraz nienaprawialności uszkodzeń w tych komórkach [5].

Stosując test kometkowy porównywano również wrażliwość nasienia płodnych i bezpłodnych mężczyzn na działanie kilku wybranych związków chemicznych *in vitro*, jednocześnie porównując wrażliwość świeżych i zamrożonych próbek. Nie stwierdzono istotnych różnic we wrażliwości [6].

Ważnym problemem w doświadczeniach, w których materiałem jest krew jest zbadanie możliwości przechowywania jej przez kilka dni bez utraty jej fizjologicznych właściwości. Jest to szczególnie istotne w przypadku konieczności przewożenia próbek krwi, kiedy niemożliwe jest jej wykorzystanie bezpośrednio po pobraniu. W badaniach przeprowadzonych w dwóch ośrodkach (Anglia i Hiszpania) krew pobierano od różnych dawców i przechowywano w temperaturze pokojowej, $+4^{\circ}\text{C}$ oraz -20°C . Test kometkowy przeprowadzono bezpośrednio po pobraniu krwi oraz w drugim, trzecim, czwartym, piątym i ósmym dniu. W każdym przypadku wykonywano badania na próbkach kontrolnych oraz po działaniu bleomycyny i nitrozomocznika *in vitro*. Przechowywanie krwi w temperaturze $+4^{\circ}\text{C}$ lub w temperaturze pokojowej nie powoduje zmian biologicznych w DNA limfocytów między pierwszą, a czwartą dobą po pobraniu. Rezultaty otrzymane w próbkach krwi traktowanych po przechowywaniu w temperaturze pokojowej lub $+4^{\circ}\text{C}$ również nie różnią się znacząco [7].

Autorka sprawozdania ocenia pobyt na stypendiach jako bardzo pożyteczny, ponieważ zapoznała się z nowymi metodami badawczymi oraz nawiązała kontakty z naukowcami z innych krajów.

PIŚMIENICTWO

1. *Anderson D., Dobrzyńska M.M., Jackson L.I., Yu T.-W., Brinkworth M.H.*: Somatic and germ cells effects in rats and mice after treatment with 1,3-butadiene and its metabolites, 1,2-epoxybutene and 1,2,3,4-diepoxybutane. *Mutat. Res.*, 1997, 391, 233.
2. *Anderson D., Dobrzyńska M.M., Basaran N., Basaran A., Yu T.-W.*: Flavonoids modulate Comet assay responses to food mutagens in human lymphocytes and sperm. *Mutat. Res.*, 1997, w druku.
3. *Anderson D., Basaran N., Dobrzyńska M.M., Basaran A.A., Yu T.-W.*: Modulating effects of flavonoids on food mutagens in human blood and sperm samples in Comet assay. *Teratogen. Carcinogen. Mutagen.*, 1997, 17, 45.
4. *Anderson D., Dobrzyńska M.M., Yu T.-W.*: Modulating effects of silymarin and myricetin on food mutagens and doxorubicin in assays with different genetic endpoints. *J. Environ. Path. Toxicol. Oncol.*, 1997, 16, 313.
5. *Anderson D., Dobrzyńska M.M., Basaran N.*: Effect of various genotoxins and reproductive toxins in human lymphocytes and sperm in the Comet assay. *Teratogen. Carcinogen. Mutagen.*, 1997, 17, 29.
6. *Anderson D., Dobrzyńska M.M., Yu T.-W., Gandini L., Cordelli E., Spano M.*: DNA intergrity in human sperm. *Teratogen. Carcinogen. Mutagen.*, 1997, w druku.
7. *Anderson D., Yu T.-W., Dobrzyńska M.M., Ribas G., Marcos R.*: The effects in Comet assay storage conditions on human blood. *Teratogen. Carcinogen. Mutagen.*, 1997, w druku.
8. *Tommasi A.M., de Conti S., Dobrzyńska M.M., Russo A.*: Evaluation and characterization of micronuclei in early spermatids of mice exposed to 1,3-butadiene. *Mutat. Res.*, 1997, w druku.

Otrzymano: 1997.12.03