

УДК 575.224.46:595.773.4

© 2003 г. Н. Г. СТРИЖЕЛЬЧИК

## ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТА ИММОБИЛИЗАЦИИ КАНЦЕРОГЕННЫХ АНТРАХИНОНОВЫХ И АЗОКРАСИТЕЛЕЙ НА ПОЛИМЕРНЫХ МАТРИЦАХ В ТЕСТАХ НА *DROSOPHILA MELANOGASTER* MG. (DIPTERA: DROSOPHILIDAE)

Важной проблемой при изучении генетических последствий химического мутагенеза является разработка информативных тест-систем (Система ..., 1975). В этом отношении *Drosophila melanogaster* является высокочувствительным тест-объектом. На дрозофиле можно изучать весь спектр генетических изменений как в соматических, так и в половых клетках (Белицкий, Шарупич, Хованова, 1982; Тихомирова, 1990). Известно, что чувствительность различных объектов к промутагенам определяется уровнем метаболической активации, которая в свою очередь обусловлена видовыми, тканевыми и функциональными особенностями (Рубенчик, 1977). Ферменты дрозофилы, метаболизирующие промутагены, имеют значительное сходство с ферментами млекопитающих. У дрозофилы, подобно клеткам млекопитающих, непрямые мутагены активируются ферментной системой оксидаз. Цитохром P-450 и многие другие монооксигеназные активности обнаружены в микросомальной фракции клеток как личинок, так и взрослых мух (Veigel, 1976). С помощью дрозофилы можно оценить как параметры инактивации (частоты доминантных летальных мутаций), так и мутагенеза (частоты рецессивных, сцепленных с полом летальных мутаций) (Шварцман, Сондоре, 1975).

Изучение мутагенного действия веществ, входящих в состав пищевых продуктов, связано с установлением существенной роли продуктов питания в возникновении онкологических заболеваний (Бочков, Чеботарёв, 1986). В Государственном научном центре лекарственных средств (Харьков) совместно с Харьковским национальным университетом им. В. Н. Каразина проведены исследования по созданию новых полимерных пищевых добавок – гелеобразующих веществ и иммобилизованных красителей (Ясницкий, Калашникова, 1985).

В проведенных ранее исследованиях (Изучение ..., 1992; Стрижельчик, Калашникова, Кульшин, 1992; Стрижельчик, Кульшин, 1994; Стрижельчик, Кульшин, Калашникова, 1995) новые пищевые добавки не индуцировали генные мутации в тесте Эймса на штаммах *Salmonella typhimurium* TA 98 и TA 100 как в условиях без, так и с метаболической активацией фракцией S-9 печени крыс.

Задачей настоящей работы являлась проверка информативности методов учёта рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций (РСПЛМ) и доминантных летальных мутаций (ДЛМ) при оценке пищевых добавок (в том числе иммобилизованных) на мутагенность.

**Объекты и методы исследований.** Объектами исследований являлись линии *Drosophila melanogaster* дикого типа: Canton-S и D-32, характеризующиеся хорошей жизнеспособностью и высокой интенсивностью яйцекладки. Использованы методы учёта РСПЛМ с помощью тестерной линии Меллер-5, а также метод учёта ДЛМ (Белоконь, 1984; Тихомирова, 1990). В качестве позитивного контроля при учёте РСПЛМ использован стандартный мутаген – 0,25 %-ный раствор нитрозометилмочевина (НММ).

В первом варианте опытов обработке подвергались взрослые самцы дрозофилы в течение 72 часов. Растворителем служила дрожжевая питательная среда. Концентрация пищевых добавок в среде составляла 500 мг/см<sup>3</sup>.

Во втором варианте опытов анализировались самцы, выращенные на средах, содержащих различные концентрации иммобилизованных красителей (0,3, 0,4 и 0,6 %). При этом частоту разрывов хромосом оценивали по возникновению ДЛМ на разных стадиях онтогенеза: эмбриональных летелей (ЭЛ), постэмбриональных летелей (ПЭЛ) и суммарной летальности потомков (СЛ). Учитывали также показатели выхода дрозофилы по количеству куколок и имаго.

Исследование сочетанного действия иммобилизованных красителей с модификаторами химического мутагенеза проводили на линии D-32. Применяли следующие варианты воздействия:

1) иммобилизованные красители вводили во внутрь среды (концентрация – 0,6 %), и далее анализировались самцы дрозофилы, выращенные на такой среде;

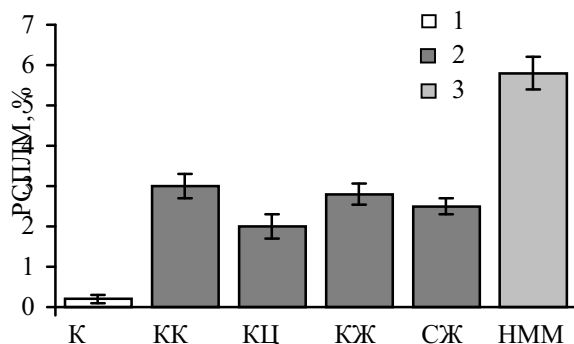
2) модификаторы вводились во внутрь среды вместе с иммобилизованным красителем: аскорбиновая кислота (концентрация в среде – 0,1 %) и ионол (концентрация в среде – 10<sup>-5</sup> М).

Выращенные самцы скрещивались с интактными виргинными самками.

Исследовались новые пищевые добавки – гелеобразующие вещества (натрий-карбоксиметилкрахмал (Na-КМК) и натрий-карбоксиметилцеллюлоза (Na-КМЦ)) и иммобилизованные красители (красный крахмал 5 СХ (КК), красная целлюлоза 5 СХ (КЦ), красный желатин 5 СХ (КЖ) и синий желатин КХ (СЖ)).

Статистическую обработку результатов осуществляли при помощи критерия  $\chi^2$  (Гублер, Генкин, 1973). Определяли коэффициент корреляционной зависимости частоты ДЛМ от величины дозы красителей (Рокицкий, 1977).

**1. Оценка РСПЛМ у дрозофилы при воздействии новых иммобилизованных красителей.** Тест на РСПЛМ является наиболее точным и чувствительным методом учёта точечных летальных мутаций у дрозофилы (Оценка ..., 1981). РСПЛМ представляют собой сборную группу мутаций, в которую входят небольшие по размерам делеции и другие виды хромосомных aberrаций, а также генные мутации.



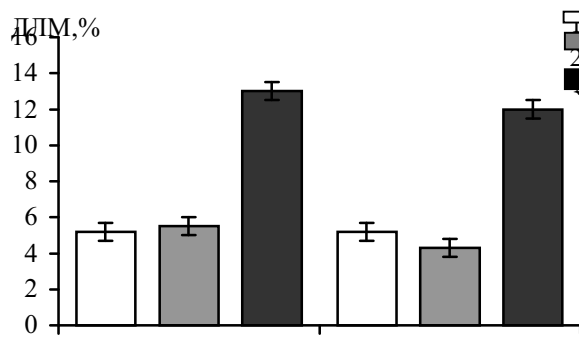
**Рис. 1.** Влияние новых иммобилизованных красителей на частоту РСПЛМ у *Drosophila melanogaster* (1 – контроль; 2 – иммобилизованные красители, 3 – НММ).

Частота РСПЛМ в контроле составила  $0,20 \pm 0,07$  %. Как видно из рис. 1, изучаемые иммобилизованные красители вызвали достоверное повышение частоты РСПЛМ по отношению к контролю (К): красный крахмал 5 СХ в 15 раз –  $3,0 \pm 0,26$  % ( $\chi^2 = 9,97$ ,  $P < 0,01$ ); красная целлюлоза 5 СХ в 10 раз –  $2,0 \pm 0,24$  % ( $\chi^2 = 5,33$ ,  $P < 0,05$ ); красный желатин 5 СХ в 14 раз –  $2,8 \pm 0,32$  % ( $\chi^2 = 9$ ,  $P < 0,01$ ); синий желатин КХ в 12,5 раза –  $2,5 \pm 0,29$  % ( $\chi^2 = 7,14$ ,  $P < 0,01$ ).

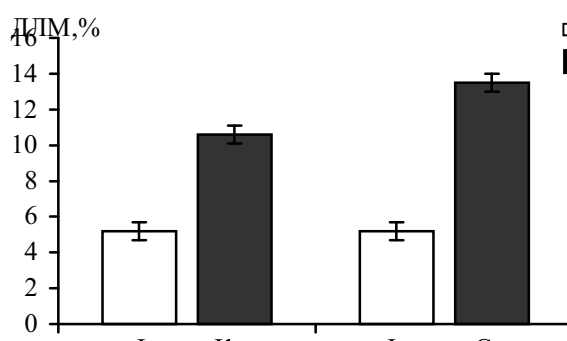
Таким образом, в результате проведенных экспериментальных исследований было установлено, что новые иммобилизованные красители способны индуцировать РСПЛМ у дрозофилы независимо от характера полимерных матриц (крахмал, целлюлоза, желатин).

**2. Динамика ДЛМ в зрелых сперматозоидах самцов дрозофилы при воздействии новых полимерных пищевых добавок (в зависимости от особенностей их химического строения).** Рядом авторов (Белоконь, 1984; Тихомирова, 1990) поднимается вопрос о перспективности использования метода учёта ДЛМ у дрозофилы при оценке мутагенных факторов окружающей среды.

ДЛМ представляют собой сборную группу различных повреждений генетического материала, в которую входят анеуплоидия по аутосомам, асимметрические транслокации, крупные делеции, потери целых хромосом и др. (Тихомирова, 1990). При этом частота возникновения ДЛМ зависит от стадии сперматогенеза. Имеющиеся данные литературы (Шварцман, Сондоре, 1975) указывают на высокую чувствительность зрелых сперматозоидов к воздействию химических веществ. Это связано с тем, что эффективность репарации на стадии зрелых сперматозоидов существенно снижена, или репарация не проходит вовсе. Полученные результаты суммированы на рис. 2 и 3. В контроле частота доминантных летальных мутаций была равна –  $5,2 \pm 0,60$  %, выход дрозофилы составлял: по количеству куколок –  $142 \pm 4,8$ , по количеству имаго –  $134 \pm 5,1$ .



**Рис. 2.** Влияние новых гелеобразующих веществ и иммобилизованных красителей на частоту ДЛМ в зрелых сперматозоидах *Drosophila melanogaster* при обработке взрослых самцов (1 – контроль, 2 – гелеобразующие вещества, 3 – иммобилизованные красители).



**Рис. 3.** Влияние новых иммобилизованных красителей на частоту ДЛМ в зрелых сперматозоидах *Drosophila melanogaster* при обработке взрослых самцов (1 – контроль, 2 – иммобилизованные красители).

Согласно полученным в работе результатам (рис. 2) Na-КМК не вызывал достоверного повышения частоты ДЛМ по отношению к контролю –  $5,5 \pm 0,35\%$  ( $\chi^2 = 0,24$ ,  $P > 0,05$ ). Не выявлено влияния Na-КМК на показатели жизнеспособности дрозофилы. Не наблюдалось достоверного снижения показателей выхода дрозофилы по отношению к контролю по количеству куколок и имаго. Выход дрозофилы по количеству куколок составил –  $167 \pm 4,0$ , по количеству имаго –  $159 \pm 4,5$  ( $P > 0,05$ ).

Аналогичные результаты были установлены при оценке гелеобразующего вещества Na-КМЦ. При обработке взрослых самцов дрозофилы Na-КМЦ не вызывала достоверного повышения частоты ДЛМ в зрелых сперматозоидах дрозофилы по отношению к контролю. Частота ДЛМ составила –  $4,3 \pm 0,30\%$ . Различия между контрольными и опытными вариантами были статистически незначимы ( $\chi^2 = 3,0$ ,  $P > 0,05$ ) (рис. 2). Не выявлено негативного влияния Na-КМЦ на показатели выхода дрозофилы. Выход дрозофилы по количеству куколок составил –  $169 \pm 5,0$ , по количеству имаго –  $162 \pm 7,0$  ( $P > 0,05$ ).

Однако, как видно из рис. 2 и 3, иммобилизованные красители, полученные на тех же полимерных матрицах, но имеющие в своей структуре канцерогенные группировки в виде хромофора, достоверно повышали по отношению к контролю частоту ДЛМ: красный крахмал 5 СХ в 2,5 раза –  $13,0 \pm 0,54\%$  ( $\chi^2 = 98$ ,  $P < 0,01$ ), красная целлюлоза 5 СХ в 2,3 раза –  $12,0 \pm 0,81\%$  ( $\chi^2 = 122$ ,  $P < 0,01$ ), красный желатин 5 СХ в 2 раза –  $10,6 \pm 0,57\%$  ( $\chi^2 = 70$ ,  $P < 0,01$ ), синий желатин КХ в 2,6 раза –  $13,5 \pm 0,61\%$  ( $\chi^2 = 132$ ;  $P < 0,01$ ).

Проведен сравнительный статистический анализ результатов, полученных при воздействии иммобилизованных красителей и гелеобразующих веществ (имеющих одинаковые полимерные матрицы). Установлены достоверные различия между частотой ДЛМ, индуцированных Na-КМК и красным крахмалом 5 СХ ( $\chi^2 = 127$ ;  $P < 0,01$ ), а также Na-КМЦ и красной целлюлозой 5 СХ ( $\chi^2 = 148$ ,  $P < 0,01$ ) (рис. 2).

В то же время, результаты сравнительного статистического анализа частоты ДЛМ, индуцированных в зрелых сперматозоидах дрозофилы азокрасителем, иммобилизованным на разных полимерных матрицах (крахмал или целлюлоза): красным крахмалом 5 СХ и красной целлюлозой 5 СХ (между собой), не выявили достоверных различий ( $\chi^2 = 1,69$ ,  $P > 0,05$ ).

Таким образом, в этой серии исследований была установлена зависимость мутагенной активности новых полимерных соединений от особенностей их химического строения – наличия канцерогенных группировок антрахиноновой и азо структуры.

**3. Динамика частоты ДЛМ у самцов дрозофилы при воздействии различных доз иммобилизованных красителей.** В этой серии исследований анализировались самцы линии D-32, выращенные на средах, содержащих различные концентрации иммобилизованных красителей (0,3, 0,4 и 0,6 %). Частоту разрывов хромосом оценивали по возникновению ДЛМ на разных стадиях онтогенеза: эмбриональной и постэмбриональной. В контрольных вариантах ЭЛ была равна –  $3,1 \pm 0,32\%$ , ПЭЛ –  $6,3 \pm 0,58\%$ . Выход дрозофилы составил: по количеству куколок –  $89,9 \pm 4,46$ , по количеству имаго –  $87,0 \pm 4,14\%$ .

**Красный крахмал 5 СХ.** Результаты, полученные при оценке воздействия различных концентраций красителя красного крахмала 5 СХ, отражены на рис. 4. Анализ неразвившихся яиц позволил установить, что частота ЭЛ возрастала ( $3,5 \pm 0,36$ ,  $4,4 \pm 0,40$  и  $8,5 \pm 0,76\%$  соответственно) с увеличением концентрации красителя. Достоверные изменения (в 2,7 раза) по отношению к контролю установлены при концентрации 0,6 % ( $\chi^2 = 49$ ,  $P < 0,01$ ). Показана высокая положительная корреляционная зависимость между частотой ЭЛ и концентрацией красителя. Коэффициент корреляционной зависимости равен  $+0,846$  ( $P < 0,01$ ).

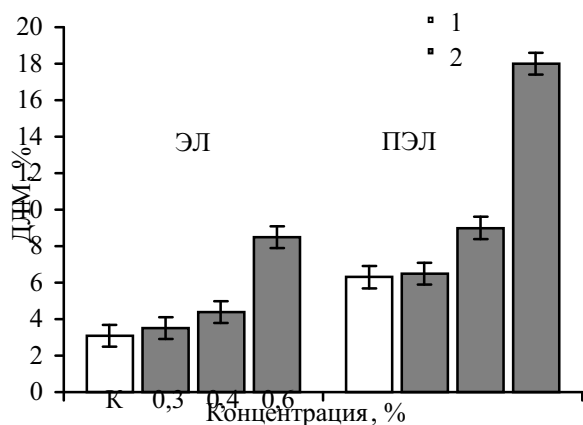


Рис. 4. Влияние различных концентраций красного крахмала 5 СХ на частоту ЭЛ и ПЭЛ (1 – контроль, 2 – красный крахмал 5 СХ).

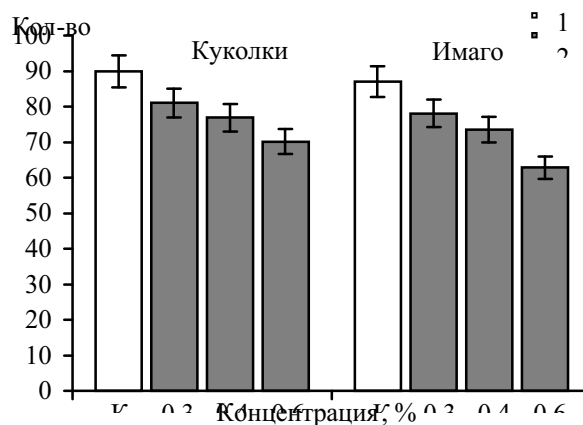
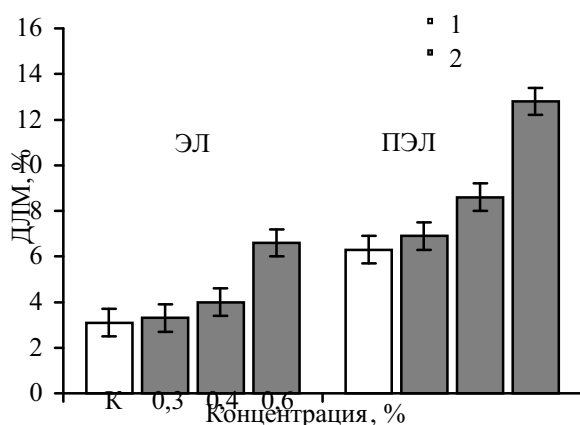


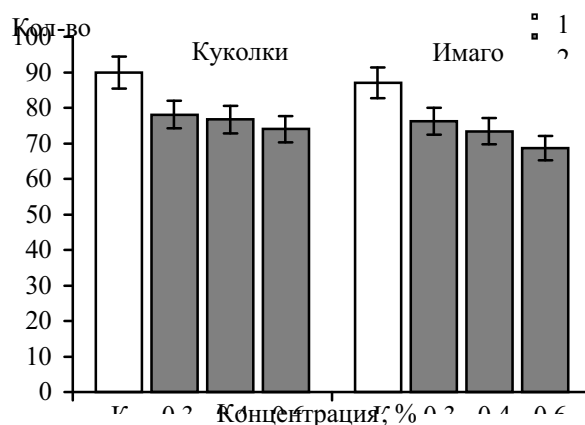
Рис. 5. Влияние различных концентраций красного крахмала 5 СХ на выход дрозофилы по количеству куколок и имаго (1 – контроль, 2 – красный крахмал 5 СХ).

Как видно из рис. 4, частота ПЭЛ также зависела от концентрации красителя и составляла 6,5±0,49, 9,0±0,80 и 18,0±1,74 % соответственно. Достоверные изменения по отношению к контролю в 2,8 раза наблюдались при воздействии концентрации, равной 0,6 % ( $\chi^2 = 10,4$ ;  $P < 0,01$ ). Анализ результатов, полученных на эмбриональной и постэмбриональной стадиях развития, позволил выявить увеличение СЛ (10,0±0,71, 13,4±1,27 и 26,5±2,00 % соответственно). Повышение частоты СЛ приводило к снижению показателей выхода дрозофилы по количеству куколок и имаго. Статистический анализ полученных результатов показал, что достоверное снижение выхода по отношению к контролю наблюдалось при концентрации красного крахмала 5 СХ, равной 0,6 %: по количеству куколок – до 77 % ( $\chi^2 = 44$ ,  $P < 0,01$ ) и по количеству имаго – до 72 % ( $\chi^2 = 58$ ,  $P < 0,01$ ) (рис. 5). Выявлена высокая отрицательная корреляционная зависимость между частотой СЛ и выходом дрозофилы по количеству имаго ( $-0,913$ ,  $P < 0,01$ ).

**Красная целлюлоза 5 СХ.** Данные, полученные при оценке мутагенности красителя красной целлюлозы 5 СХ, представлены на рис. 6. Отмечено повышение частоты ЭЛ с увеличением концентрации красителя (3,3±0,33, 4,0±0,50 и 6,6±0,55 %). Во время сравнения эффекта доз между собой было установлено, что статистически значимые различия по отношению к контролю (более чем в 2 раза) наблюдаются при концентрации, равной 0,6 % ( $\chi^2 = 23$ ,  $P < 0,01$ ). Коэффициент корреляционной зависимости между частотой ЭЛ и концентрацией красителя в среде составил +0,849 ( $P < 0,01$ ).



**Рис. 6.** Влияние различных концентраций красной целлюлозы 5 СХ на частоту ЭЛ и ПЭЛ (1 – контроль, 2 – красная целлюлоза 5 СХ).



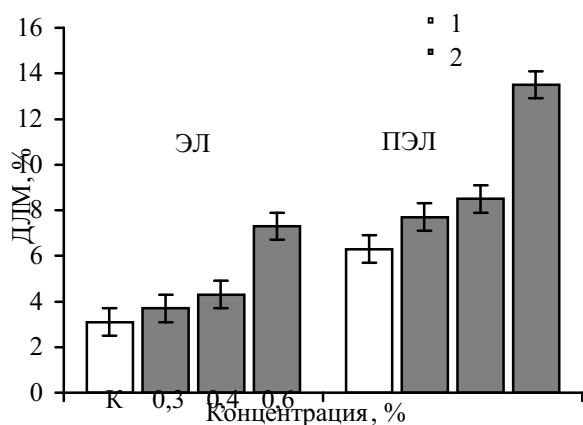
**Рис. 7.** Влияние различных концентраций красной целлюлозы 5 СХ на выход дрозофилы по количеству куколок и имаго (1 – контроль, 2 – красная целлюлоза 5 СХ).

В свою очередь, отмечено дозозависимое изменение частоты ПЭЛ (6,9±0,59, 8,6±0,74 и 12,8±0,88 % соответственно). Статистический анализ полученных данных показал, что достоверные изменения по отношению к контролю (в 2 раза) отмечены при концентрации красной целлюлозы 5 СХ, равной 0,6 % ( $\chi^2 = 36,4$ ,  $P < 0,01$ ) (рис. 6). С увеличением концентрации красной целлюлозы также возрастала и величина СЛ, которая была равна 10,2±0,72, 12,6±1,14 и 19,4±1,27 % соответственно. Повышение частоты СЛ в итоге вызывало снижение показателей выхода дрозофилы. Статистически значимое снижение по отношению к контролю установлено при концентрации красной целлюлозы 5 СХ, равной 0,6 %: по количеству куколок – до 84 % ( $\chi^2 = 18$ ;  $P < 0,01$ ) и по количеству имаго – до 81 % ( $\chi^2 = 94$ ;  $P < 0,01$ ) (рис. 7). Выявлена высокая отрицательная зависимость между показателями выхода дрозофилы по количеству имаго и частотой СЛ ( $-0,867$ ,  $P < 0,01$ ).

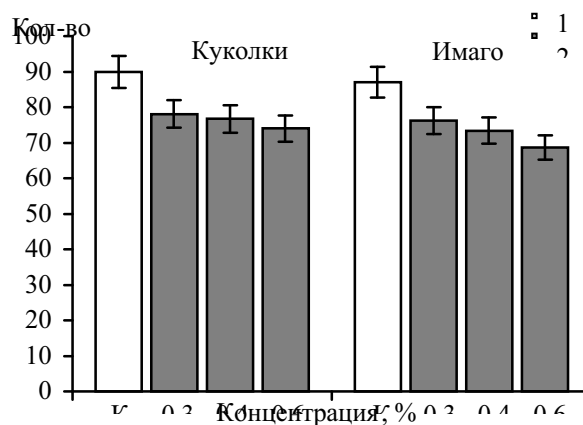
**Красный желатин 5 СХ.** Аналогичные результаты выявлены во время изучения мутагенности красителей красного желатина 5 СХ и синего желатина КХ. Как видно из рис. 8, красный желатин 5 СХ индуцировал дозозависимое повышение частоты ЭЛ (3,7±0,36, 4,3±0,54 и 7,3±0,65 % соответственно). Статистически значимые изменения по отношению к контролю (в 2,3 раза) зафиксированы при воздействии концентрации 0,6 % ( $\chi^2 = 29,9$ ;  $P < 0,01$ ). Показана высокая корреляционная зависимость эффекта от концентрации. Коэффициент корреляционной зависимости равен +0,879 ( $P < 0,01$ ).

Согласно полученным в работе результатам частота ПЭЛ также зависела от концентрации красителя. Чем больше доза, тем выше частота ПЭЛ (7,7±0,74, 8,5±0,68 и 13,7±0,82 % соответственно). Достоверные изменения по отношению к контролю (в 2,1 раза) установлены при концентрации, равной 0,6 % ( $\chi^2 = 44,4$ ;  $P < 0,01$ ) (рис. 8). СЛ, индуцированная иммобилизованным красителем красным желатином в диапазоне доз 0,3, 0,4 и 0,6 %, составила 11,4±0,79, 12,8±0,97 и 21,0±1,06 % соответственно. С увеличением концентрации красного желатина 5 СХ также происходило снижение показателей выхода дрозофилы. Статистически значимые изменения по отношению к контролю выявлены при концентрации 0,6 %: по количеству куколок – до 82 % ( $\chi^2 = 25$ ;  $P < 0,01$ ), по количеству имаго – до 79 % ( $\chi^2 = 21,5$ ;

$P < 0,01$ ) (рис. 9). Коэффициент корреляционной зависимости между частотой СЛ и величиной выхода дрозифилы по количеству имаго составил  $-0,803$  ( $P < 0,01$ ).



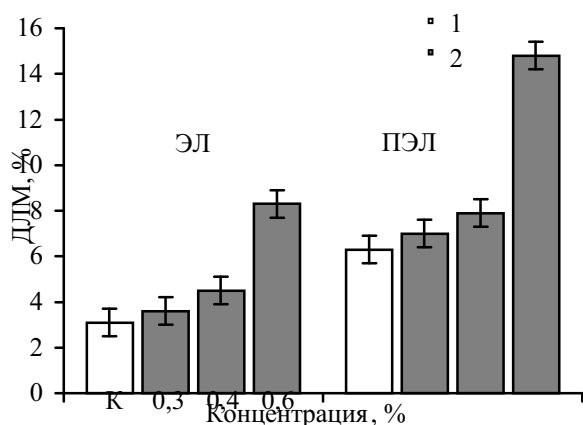
**Рис. 8.** Влияние различных концентраций красного желатина 5 СХ на частоту ЭЛ и ПЭЛ (1 – контроль, 2 – красный желатин 5 СХ).



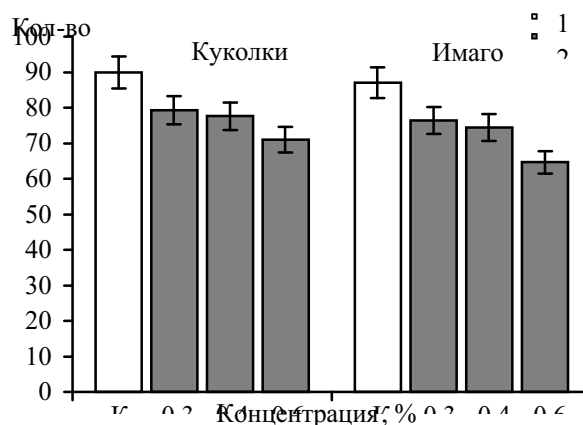
**Рис. 9.** Влияние различных концентраций красного желатина 5 СХ на выход дрозифилы по количеству куколок и имаго (1 – контроль, 2 – красный желатин 5 СХ).

**Синий желатин КХ.** Исследование мутагенного эффекта у дрозифилы при воздействии антрахинонового иммобилизованного красителя синего желатина КХ показало, что этот краситель так же, как и иммобилизованные азокрасители, вызывал дозозависимое повышение частоты ЭЛ ( $3,6 \pm 0,35$ ,  $4,5 \pm 0,41$  и  $8,3 \pm 0,61$  % соответственно). Статистически значимые изменения ЭЛ по отношению к контролю (в 2,6 раза) получены при концентрации 0,6 % ( $\chi^2 = 39,6$ ;  $P < 0,01$ ) (рис. 10). Выявлена высокая положительная корреляционная зависимость между частотой ЭЛ, индуцированных синим желатином и концентрацией красителя ( $+0,855$ ;  $P < 0,01$ ).

Дозозависимые изменения частоты ПЭЛ, индуцированных этим красителем составили  $7,0 \pm 0,70$ ,  $7,9 \pm 1,19$  и  $14,8 \pm 1,34$  % соответственно. Достоверные изменения по отношению к контролю (в 2,3 раза) установлены при концентрации красителя, равной 0,6 % ( $\chi^2 = 61,0$ ,  $P < 0,01$ ). СЛ при воздействии различных концентраций красителя составила  $10,6 \pm 0,86$ ,  $12,4 \pm 1,51$  и  $23,1 \pm 1,81$  % и в итоге приводила к снижению показателей выхода дрозифилы по количеству куколок и имаго. Оценка выхода выявила достоверное снижение показателей при концентрации 0,6 %: по количеству куколок – до 79 % ( $\chi^2 = 2$ ,  $P < 0,01$ ), по количеству имаго – до 74 % ( $\chi^2 = 52$ ,  $P < 0,01$ ) (рис. 11). Установлена высокая отрицательная корреляционная зависимость между частотой СЛ и выходом дрозифилы по количеству имаго ( $-0,885$ ,  $P < 0,01$ ).



**Рис. 10.** Влияние различных концентраций синего желатина КХ на частоту ЭЛ и ПЭЛ (1 – контроль, 2 – синий желатин КХ).



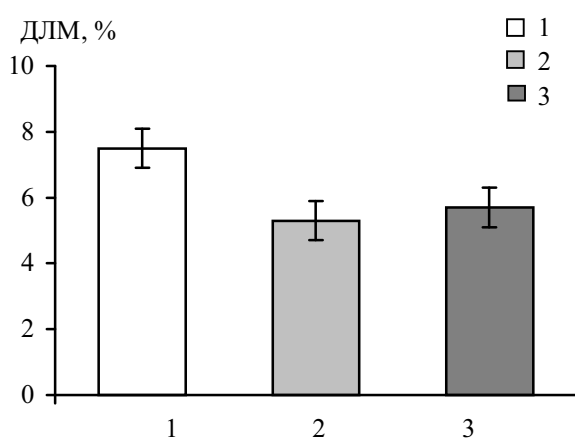
**Рис. 11.** Влияние различных концентраций синего желатина КХ на выход дрозифилы по количеству куколок и имаго (1 – контроль, 2 – синий желатин КХ).

Таким образом, на основании проведенных экспериментальных исследований было показано, что новые иммобилизованные красители, содержащие канцерогенные группировки антрахиноновой и азо структуры, способны индуцировать ДЛМ как при обработке взрослых самцов, так и личинок дрозифилы.

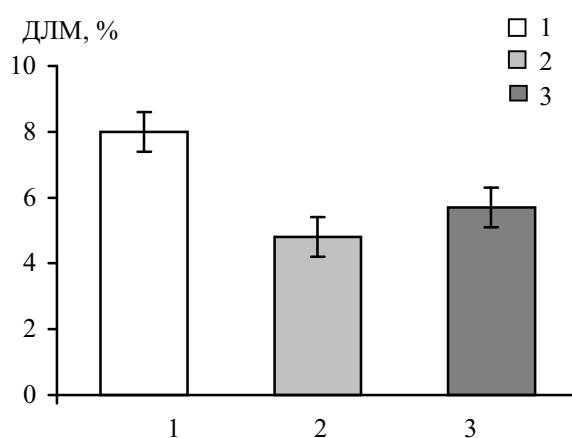
Установлена высокая положительная корреляционная зависимость эффекта от концентрации красителей в среде. Выявлено достоверное влияние иммобилизованных красителей на показатели выхода дрозофилы по количеству куколок и имаго. Показано, что смена разных полимерных матриц не приводит к достоверному снижению мутагенной активности иммобилизованных красителей.

**4. Исследование сочетанного действия антрахиноновых и азокрасителей с модификаторами химического мутагенеза.** В этой серии исследований частота ДЛМ, индуцированных у самцов дрозофилы иммобилизованным азокрасителем красным желатином 5 СХ, составила  $7,5 \pm 0,83$  %. В результате сочетанного воздействия иммобилизованного красителя с модификаторами химического мутагенеза отмечено достоверное снижение частоты ДЛМ при использовании аскорбиновой кислоты – на 29,4 % ( $5,3 \pm 0,89$  %,  $\chi^2 = 20,0$ ,  $P < 0,01$ ), а при использовании ионола – на 24 % ( $5,7 \pm 0,98$  %,  $\chi^2 = 13,1$ ,  $P < 0,01$ ) (рис. 12).

Аналогичные результаты были получены при сочетанном воздействии иммобилизованного антрахинонового красителя синего желатина КХ с модификаторами химического мутагенеза. Частота ДЛМ, индуцированных синим желатином КХ, в этой серии исследований составила  $8,0 \pm 1,27$  %. Наблюдалось достоверное снижение мутагенного эффекта, индуцированного синим желатином КХ, при использовании аскорбиновой кислоты – на 40 % ( $4,8 \pm 0,85$  %,  $\chi^2 = 32,5$ ,  $P < 0,01$ ), а при использовании ионола – на 31 % ( $5,5 \pm 0,91$  %,  $\chi^2 = 18,1$ ,  $P < 0,01$ ) (рис. 13).



**Рис. 12.** Влияние модификаторов химического мутагенеза (аскорбиновая кислота, ионол) на частоту ДЛМ у дрозофилы, индуцированных иммобилизованным красителем красным желатином 5 СХ (1 – красный желатин 5 СХ, 2 – красный желатин 5 СХ + аскорбиновая кислота, 3 – красный желатин 5 СХ + ионол).



**Рис. 13.** Влияние модификаторов химического мутагенеза (аскорбиновая кислота, ионол) на частоту ДЛМ у дрозофилы, индуцированных иммобилизованным красителем синим желатином КХ (1 – синий желатин КХ, 2 – синий желатин КХ + аскорбиновая кислота, 3 – синий желатин КХ + ионол).

Считается доказанным, что мутагенный эффект антрахиноновых соединений может быть обусловлен ДНК-повреждающим действием свободных радикалов кислорода. Хиноны претерпевают в клетке двухэлементное восстановление в гидрохиноны, а также путем одноэлектронного восстановления превращаются в семихинон-радикалы. Семихинон-радикалы способны прямо взаимодействовать с ДНК или могут автоокисляться обратно в хиноны с образованием свободных радикалов кислорода (Дурнев, Середенин, 1993, 1998). В отношении азокрасителей имеющиеся литературные данные указывают на то, что метаболиты азокрасителей образуют большое число ДНК-аддуктов. Установлена прямая зависимость между бластомогенной активностью производных азокрасителей и степенью их связывания с ДНК (Ломоносова, Пикунев, Курченко, 1992). Известно, что аскорбиновая кислота способна выполнять роль экрана, благодаря которому электрофильные метаболиты взаимодействуют не с ДНК, а с содержащим нуклеофильные группировки протектором (Дурнев, Середенин, 1993).

Ионол также относится к группе ингибиторов, которые могут оказывать влияние на пути мутагена к молекулам-мишеням и, таким образом, уменьшать его молекулярную дозу. Считается, что механизм модифицирующего действия ионола связан со свободно-радикальными процессами. Кроме того, модифицирующий эффект используемых в работе модификаторов может обеспечиваться косвенным путем в результате стимуляции продуктов эндогенных антимутагенов и ферментов, участвующих в детоксикации ксенобиотиков (Кужир, Гончарова, 1995).

Полученные в работе экспериментальные данные указывают на способность иммобилизованных на полимерных матрицах канцерогенных антрахиноновых и азокрасителей (подобно обычным проканцерогенам) трансформироваться в клетках эукариот с образованием метаболитов, способных

вступать во взаимодействие с модификаторами химического мутагенеза. Результатом такого взаимодействия является достоверное снижение частоты ДЛМ.

Таким образом, на основании проведенных в работе экспериментальных исследований была установлена высокая информативность метода учёта ДЛМ мутаций как при оценке мутагенного, так и модифицирующего действия пищевых добавок.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Белицкий Г. А., Шарупич Е. Г., Хованова Е. М.** Методические рекомендации по применению соматического мутагенеза на *Drosophila melanogaster* в качестве тест-системы для ускорения определения канцерогенов. – М., 1982. – 20 с.
- Белоконь Е. М.** Методические указания к определению мутагенной активности химпрепаратов с помощью тестов на дрозофиле. – Львов: Львов. гос. ун-т, 1984. – 8 с.
- Бочков Н. П., Чеботарёв А. Н.** Наследственность человека и мутагены внешней среды. – М.: Медицина, 1986. – 270 с.
- Гублер Е. В., Генкин А. А.** Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. – М.: Медицина, 1973. – С. 21–25, 53–56.
- Дурнев Н. Д., Середенин С. Б.** Фармакологические проблемы поиска и применения антимуагенов // Вестн. РАМН. – 1993. – № 1. – С. 14–26.
- Дурнев Н. Д., Середенин С. Б.** Мутагены – скрининг и фармакологическая профилактика воздействия. – М.: Медицина, 1998. – 327 с.
- Изучение мутагенной активности новых пищевых добавок на *Salmonella typhimurium*** / Н. Г. Стрижельчик, В. Е. Кульшин, И. Е. Калашникова, И. И. Новик; Харьков. гос. ун-т. – X., 1992. – 12 с. – Рус. – Деп. в ГНТИ Украины 15.07.92, № 1068 – Ук 92 // Анот. в библиогр. указ. «Депонирование работы», № 11 (253), б/о, 1992.
- Кужир Т. Д., Гончарова Р. И.** Некоторые механизмы ингибирующего действия производных 1,4-дигидроизонокотининовой кислоты (1,4-ДГИНК) при химическом мутагенезе // Токсикол. вестник. – 1995. – № 5. – С. 29–35.
- Ломоносова Е. Е., Пикулев Ф. Т., Курченко В. П.** Механизмы антиокислительной защиты печени крыс при действии ароматических аминов // Биохимия. – 1992. – Вып. 7. – С. 1077–1082.
- Оценка мутагенности новых лекарственных средств: Метод. реком.** – М.: ФК МЗ СССР, 1990. – 40 с.
- Рокицкий П. Ф.** Биологическая статистика. – Минск: Высшая школа, 1977. – 328 с.
- Рубенчик Б. Л.** Биохимия канцерогенеза. – К.: Здоров'я, 1977. – С. 5–24.
- Система оценки химических веществ на мутагенность для человека: общие принципы, практические рекомендации и дальнейшие разработки** / Н. П. Бочков, Р. Я. Шрам, Н. П. Кулешов, В. С. Журков // Генетика. – 1975. – Т. 11, № 10. – С. 150–172.
- Стрижельчик Н. Г., Калашникова И. Е., Кульшин В. Е.** Изучение новых иммобилизованных красителей // Лекарственные средства Украины, синтез, научные исследования, производство, реализация: Тез. докл. науч.-практ. конф. – X., 1992. – С. 244.
- Стрижельчик Н. Г., Кульшин В. Е.** Изучение мутагенных и модифицирующих свойств новых студнеобразующих веществ с помощью теста Эймса // Цитология и генетика. – 1994. – Т. 28, № 3. – С. 91–93.
- Стрижельчик Н. Г., Кульшин В. Е., Калашникова И. Е.** К проблеме познания новых пищевых красителей. Сообщение // Фармаком. – 1995. – № 4. – С. 28–31.
- Тихомирова М. М.** Генетический анализ. – Л., 1990. – 280 с.
- Шварцман П. Я., Сондоре З. А.** Индуцированный соматический мозаицизм у дрозофилы как тест для оценки генетической активности факторов окружающей среды // Генетика. – 1975. – Т. 11, № 8. – С. 171–173.
- Ясницкий Б. Ю., Калашникова И. Е.** Красители и красящие вещества в производстве лекарственных препаратов и пищевых продуктов. Химико-фармацевтическая промышленность. Обзорная информация. – М.: ЦБНТИ, 1985. – Вып. 9. – 31 с.
- Veget E.** Mutagenicity of carcinogens in *Drosophila* as function of genotype controlled metabolism // Vitro Metabolic Actival Mutagenesis Testing. – Amsterdam, 1976. – P. 63–79.

Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина

Поступила 23.02.2003

UDC 575.224.46:595.773.4

**N. G. STRIZHELCHIK**

### **ASSESSMENT OF CARCINOGENIC EFFECT OF CERTAIN DYES IMMOBILIZED ON POLYMERIC MATRICES IN TESTS ON *DROSOPHILA MELANOGASTER* MG. (DIPTERA: DROSOPHILIDAE)**

*Kharkov National University*

#### SUMMARY

Studies on *Drosophila melanogaster* revealed that newly introduced nitric and antrachinon-based foodstuff dyes have a carcinogenic effect. The polymer compounds (starch, cellulose, gelatine) used as matrices in production of these dyes have been tested as well, but were found not carcinogenic. We have also found that compounds known to prevent chemically induced mutations (ascorbic acid and ionol) can reduce the frequency of lethal dominant mutations in *Drosophila melanogaster* induced by the foodstuff dyes studied.

13 figs, 20 refs.