

УДК 595.7.082.26

© 1998 г. Н. Г. СТРИЖЕЛЬЧИК

## ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ НОВЫХ ПИЩЕВЫХ ДОБАВОК НА *DROSOPHILA MELANOGASTER*

*Drosophila melanogaster* является удобным тест-объектом при оценке мутагенности химических факторов окружающей среды. На дрозофиле можно изучать весь спектр генетических изменений как в соматических, так и в половых клетках. Ферменты дрозофилы, метаболизирующие ксенобиотики, имеют сходство с таковыми млекопитающих (Белицкий, Шарупич, Хованова, 1982; Белоконь, 1984; Тихомирова, 1990).

Изучение мутагенного действия веществ, входящих в состав пищевых продуктов, связано с установлением существенной роли продуктов питания в возникновении онкологических заболеваний (Бочков, Чеботарев, 1986).

В Государственном научном центре лекарственных средств совместно с Харьковским государственным университетом проведены исследования по созданию новых красителей для пищевой промышленности.

Одним из наиболее перспективных направлений в области изыскания новых безопасных красителей для пищевой промышленности является иммобилизация различных хромофоров на полимерных веществах, главным образом не подвергающихся биодеструкции в желудочно-кишечном тракте. Если полимер не подвергается биодеструкции и связь между хромофором и полимерной основой не разрушается, то красящее вещество не поступает в кровеносную систему, не подвергается метаболизму и полностью выводится из организма в неизменном состоянии. Это значительно снижает риск вредного действия, но полностью не исключает его (Ясницкий, Калашникова, 1985).

В проведенных ранее исследованиях иммобилизованные красители не индуцировали рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций у дрозофилы и генных мутаций в тесте Эймса на штаммах *Salmonella typhimurium* TA 98 и TA 100 как в условиях с метаболической активацией *in vitro*, так и без нее (Стрижельчик, 1995). Однако в культуре лимфоцитов в системе *in vitro* иммобилизованные красители вызывали индукцию абберацией хромосом в зависимости от величины дозы (Стрижельчик, 1996; 1996а).

В настоящей работе изложены результаты изучения мутагенных свойств новых иммобилизованных красителей красного крахмала, красной целлюлозы, красного желатина и синего желатина в тестах на *Drosophila melanogaster*.

### Объекты и методы исследования

Объектами исследований являлись линии *Drosophila melanogaster* дикого типа: Canton-S и D-32, характеризующиеся хорошей жизнеспособностью и высокой интенсивностью яйцекладки. Использован метод учета доминантных летальных мутаций в зрелых сперматозоидах дрозофилы (Белоконь, 1984). Исследовались дозы красителей, равные 1/20, 1/15 и 1/10 ЛД<sub>50</sub>, что соответствует концентрациям 300, 400 и 600 мкг/мл. Анализировались самцы, выращенные на среде, содержащей различные концентрации красителей, которые скрещивались с виргинными интактными самками. Яйцекладка осуществлялась на агаровые пластинки в чашки Петри. Учитывали общее число отложенных яиц. Через 48 ч проводили подсчет числа неразвившихся яиц. Определяли процент доминантных летальных мутаций от общего числа оплодотворенных яиц. Далее осуществляли подсчет куколок и имаго с 1 по 8 сутки лета. По числу потомков на стадии куколок и имаго определяли "плодовитость". В этой серии было проанализировано более 24000 яиц.

### Результаты исследований

Полученные результаты исследований отражены в табл. 1–3. Сравнительный анализ показал, что иммобилизованные красители вызывают повышение частоты доминантных летальных мутаций в зависимости от величины дозы. Сопоставление результатов позволило установить, что при концентрациях 300 и 400 мкг/мл (1 и 2-я концентрации) наблюдалось

незначительное увеличение доминантных летелей. Во время оценки этих доз не выявлено достоверного снижения плодовитости по количеству куколок и имаго. Достоверные изменения установлены при концентрации красителей, равной 600 мкг/мл (3-я концентрация). В этом случае краситель красный крахмал индуцировал увеличение частоты доминантных летелей по отношению к контролю в 2,7 раза (хи-квадрат = 49;  $P < 0,01$ ).

Зависимость между концентрацией красного крахмала (X) и частотой доминантных летальных мутаций (Y) может быть выражена следующим уравнением:

$$Y = 24,5 \times 10^{-9} \times X^3 + 3,1$$

Наблюдалось также достоверное снижение плодовитости по количеству куколок до 77,8% (хи-квадрат = 44;  $P < 0,01$ ) и по количеству имаго до 72% (хи-квадрат = 58;  $P < 0,01$ ).

Таблица 1.

**Зависимость частоты возникновения доминантных летальных мутаций, индуцированных в зрелых сперматозоидах *Drosophila melanogaster* Д-32 от величины дозы иммобилизованных красителей**

Варианты опытов	Частота доминантных летальных мутаций $X \pm$			
	контроль	1	2	3
Красный крахмал	3,1±0,17	3,5±0,26	4,4±0,37	8,5±0,74
Красная целлюлоза	— " —	3,3±0,27	4,0±0,40	6,6±0,37
Красный желатин	— " —	3,7±0,34	4,3±0,25	7,3±0,52
Синий желатин	— " —	3,6±0,41	4,4±0,31	8,3±0,41

Красная целлюлоза в концентрации 600 мкг/мл индуцировала достоверное увеличение доминантных летелей по отношению к контролю в 2 раза (хи-квадрат = 23;  $P < 0,01$ ).

Зависимость между концентрацией красной целлюлозы и частотой доминантных летальных мутаций может быть выражена следующим уравнением:

$$Y = 16,2 \times 10^{-9} \times X^3 + 3,1$$

Отмечено достоверное снижение плодовитости по количеству куколок до 84,5% (хи-квадрат = 18;  $P < 0,01$ ) и по количеству имаго до 79,6% (хи-квадрат = 94;  $P < 0,01$ ).

Красный желатин индуцировал увеличение частоты доминантных летелей в 2,3 раза (хи-квадрат = 29,9;  $P < 0,01$ ). Зависимость между концентрацией красного желатина и частотой доминантных летальных мутаций может быть выражена следующим уравнением:

$$Y = 19,2 \times 10^{-9} \times X^3 + 3,1$$

Наблюдалось достоверное снижение плодовитости по количеству куколок до 82,3% (хи-квадрат = 25;  $P < 0,01$ ) и по количеству имаго до 78,8% (хи-квадрат = 21,5;  $P < 0,01$ ).

Таблица 2.

**Зависимость плодовитости *Drosophila melanogaster* Д-32 по количеству куколок от величины дозы иммобилизованных красителей**

Варианты опытов	Число потомков по количеству куколок			
	контроль	1	2	3
Красный крахмал	89,9±4,5	81,0±2,69	76,9±2,99	70,1±2,87
Красная целлюлоза	— " —	83,0±3,11	79,5±3,01	76,1±2,63
Красный желатин	— " —	78,1±3,35	76,7±3,40	74,0±4,03
Синий желатин	— " —	79,2±6,10	77,6±3,53	71,0±3,70

Синий желатин вызывал достоверное повышение частоты доминантных летелей в 2,6 раза (хи-квадрат = 39,6;  $P < 0,01$ ).

Зависимость между концентрацией синего желатина и частотой доминантных летальных мутаций может быть выражена следующим уравнением:

$$Y = 24,0 \times 10^{-9} \times X^3 + 3,1$$

Выявлено достоверное снижение плодовитости по количеству куколок до 78,9% (хи-квадрат = 12,1;  $P < 0,01$ ) и по количеству имаго до 74,2% (хи-квадрат = 52,9;  $P < 0,01$ ).

**Зависимость плодовитости *Drosophila melanogaster* Д-32  
по количеству имаго от величины дозы иммобилизованных красителей**

Варианты опытов	Число потомков по количеству имаго			
	контроль	1	2	3
Красный крахмал	87,0±4,10	78,1±2,51	73,5±2,69	62,8±2,09
Красная целлюлоза	— " —	80,1±2,87	75,1±2,99	69,3±2,27
Красный желатин	— " —	76,2±3,11	73,4±3,20	68,6±3,46
Синий желатин	— " —	76,4±3,87	74,4±3,17	64,6±2,93

В ранее проведенных исследованиях на *Drosophila melanogaster* Canton-S при затравке взрослых самцов установлены аналогичные результаты. Сравнительный анализ показал, что иммобилизованные красители красный крахмал и красная целлюлоза вызывали достоверное повышение частоты доминантных летальных мутаций в зрелых сперматозоидах (Стрижельчик, 1996; 1996а), при этом новые студнеобразующие вещества – натрий-карбоксиметилкрахмал и натрий-карбоксиметилцеллюлоза, полученные на тех же полимерных основах, но не имеющие в своей структуре хромофора, мутагенной активности не проявили (Стрижельчик, 1995; Новик, 1995).

При создании изучаемых красителей в качестве хромофора применен активный проционовый азокраситель ярко-красный 5 СХ. Канцерогенность этого красителя выявлена в исследованиях на млекопитающих (Плисс, 1976). Метаболизм азокрасителей начинается восстановительным разрывом азосвязи с образованием соответствующих аминов, которые и вызывают канцерогенный эффект (Парк, 1973).

На основании проведенных нами исследований и имеющихся литературных данных можно предположить, что ведущая роль в формировании мутагенного эффекта иммобилизованных красителей принадлежит хромофору.

Таким образом, в этой работе было установлено, что новые иммобилизованные красители способны оказывать влияние на жизнеспособность дрозофилы, снижая плодовитость по количеству куколок и имаго и вызывать индукцию доминантных летальных мутаций в зрелых сперматозоидах как при затравке взрослых самцов, так и имаго.

#### 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: ЛГУ, 1984. – 8 с.
- Бочков Н. П., Чеботарев А. Н. Наследственность человека и мутагены внешней среды. – М.: Медицина, 1986. – 270 с.
- Новик И. И., Стрижельчик Н. Г. Оценка мутагенной активности вспомогательного фармацевтического вещества натрий-карбоксиметилкрахмала на дрозофиле // Вест. пробл. совр. медицины. – 1995. – № 12. – С. 105–107.
- Парк Д. В. Биохимия чужеродных соединений. – М., 1973. – С. 191–193.
- Плисс Г. Б. Канцерогенное действие органических красителей // Вредные вещества в промышленности. Органические вещества. – М.: Химия, 1976. – С. 522–524.
- Стрижельчик Н. Г. Влияние нового студнеобразующего вещества натрий-карбоксиметилцеллюлозы на частоту летальных мутаций на дрозофиле // Вест. пробл. совр. медицины. – 1995. – № 2. – С. 99–101.
- Стрижельчик Н. Г. Оценка мутагенных свойств нового иммобилизованного красителя красного крахмала на культуре лимфоцитов человека // Вест. пробл. биологии и медицины. – 1996. – Вып. 10. – С. 128–131.
- Стрижельчик Н. Г. Влияние нового иммобилизованного красителя красной целлюлозы на частоту хромосомных aberrаций в культуре лимфоцитов человека // Вест. пробл. биологии и медицины. – 1996а. – Вып. 10. – С. 134–138.
- Стрижельчик Н. Г., Кульшин В. Е., Калашникова И. Е. Проблемы создания новых пищевых красителей. Сообщение I // Фармаком. – 1995. – № 4. – С. 28–32.
- Тихомирова М. М. Генетический анализ. – Л., 1990. – 280 с.

Ясницкий 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.

*Харьковский государственный университет*

N. G. STRIZHEL'CHIK

## **THE STUDY OF GENETIC EFFECTS OF NEW FOOD DYES ON DROSOPHILA MELANOGASTER**

*Kharkov State University*

### **S U M M A R Y**

A research into mutagenic properties of some immobilized dyes has been conducted on *Drosophila melanogaster*. The method of dominant lethal mutation was used. Dependence of mutagenic effect on dose and chemical structure of food dyes has been studied. The decrease in viability and reproductivity (the number of pupils and imago) of *Drosophila* and induction of dominant lethal mutation in spermiums under the influence of the dyes on male imago and larvae have been determined.