

© Фрич Н. І.

УДК 582. 688 + 575. 224. 4 + 58. 085

Фрич Н. І.

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИМУТАГЕННИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ *ARCTOSTAPHYLOS UVA-URSI L. SPRENG.* В БАКТЕРІАЛЬНІЙ ТЕСТ-СИСТЕМІ НА ДОКЛІНІЧНОМУ ЕТАПІ

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

(м. Івано-Франківськ)

Дана робота є фрагментом НДР «Комплексне оцінювання генетичних наслідків мутагенного забруднення довкілля і способи їх попередження», № держ. реєстрації 0104U002434.

Вступ. Оцінка можливого небажаного впливу на організм людини та вивчення генотоксичних властивостей – важливий аспект дослідження лікувальних засобів на доклінічному етапі.

Мучниця звичайна (*Arctostaphylos uva-ursi L. Spreng.*) використовується достатньо широко в якості лікувальних засобів народною медициною [4,5], але назріла необхідність створення на її основі нових офіційних препаратів. Застосування нових технологій екстрагування вимагає переоцінки токсичності, і зокрема генотоксичності, одержаних комплексів біологічно активних сполук. Важливе значення для практичної медицини має також створення нових лікувально-профілактичних засобів з генопротекторними властивостями, які б мали здатність підвищувати стабільність геному клітин в умовах наростаючого мутагенного тиску із сторони несприятливих екологічних факторів (хімічні мутагени і канцерогени, радіація, ультрафіолетове і мікрохвильове випромінювання).

Враховуючи особливості фітохімічного складу, такі властивості можуть бути притаманними лікарській сировині мучниці звичайної.

Мета роботи – дослідити антимутагенні властивості екстрактів мучниці звичайної за допомогою бактеріальної тест-системи.

Об'єкт і методи дослідження. Для дослідження використано офіційну сировину – листки мучниці звичайної (*Folia Uvae-ursi*) (ЗАТ «Ліктрави», м. Житомир, Україна).

Із висушеної і подрібненої сировини виготовляли водно-етанольні екстракти (співвідношення сировина-екстрагент 1:10). Екстрагування виконували за кімнатної температури згідно з вимогами Державної фармакопеї. Для дослідів використовували 90, 70 та 40% екстракти у розведенні 1:128. Екстракти досліджували у стандартному напівкількісному тесті Еймса згідно з методичними розробками [6].

Тест-об'єктом слугували гістидинзалежні штами *Salmonella typhimurium TA98* (реєструє мутації зсуву рамки зчитування) і *TA100* (реєструє мутації заміни

пар основ). Всі досліди супроводжувалися негативним (вода) та позитивним (біхромат калію, як модельний мутаген) контролями. Підготовку поживних середовищ та тест-штамів до проведення досліджень здійснювали згідно з методичними рекомендаціями [7].

Для вивчення впливу водно-етанольних екстрактів на спонтанний мутагенез у тест штамів *S. typhimurium* вносили 0,1 мл досліджуваного екстракту до напіврідкого агару одночасно із 0,1 мл суспензії клітин тест-штаму. Напіврідкий агар виливали в чашку Петрі на шар мінімального агару без гістидину. Для вивчення впливу на індукований мутагенез разом із суспензією тест-штаму та досліджуваним екстрактом вносили 0,1 мл розчину біхромату калію ($K_2Cr_2O_7$) в концентрації 2 мг/мл. Через 48 годин культивування за температури 37°C підраховували кількість колоній His⁺-ревертантів. Наявність власної мутагенної активності екстрактів визначали за відмінностями між кількістю колонієутворюючих одиниць (КУО) ревертантів у досліді та негативному контролі. Антимутагенний ефект визначали за відсотком пригнічення числа ревертантів, індукованих модельним мутагеном в присутності досліджуваного екстракту, у порівнянні з кількістю ревертантів, індукованих самим біхроматом.

Статистичну обробку даних здійснено за допомогою програм MS Office Excel 2003. Наявність статистично значущих відмінностей між кількістю КУО ревертантів у досліді та позитивному контролі оцінено за *t*-критерієм Стьюдента ($p = 0,05$) [2,3,5].

Результати досліджень та їх обговорення. Першу серію дослідів виконано з метою виявлення можливого мутагенного ефекту водно-етанольних екстрактів мучниці звичайної (90, 70 та 40%), а також екстрагентів (розчинів етанолу відповідних концентрацій). Результати досліджень показали, що етанол та досліджувані екстракти не індукували генних мутацій у тестованих штамів *Salmonella typhimurium TA98* і *TA100* (рис.).

Підтвердженням цього є кількість колоній, яка у дослідних варіантах була наближеною або дорівнювала такій у контролі (дистильована вода), який відповідав спонтанному фону мутагенезу. Разом з тим відсутність достовірного зменшення спонтанного

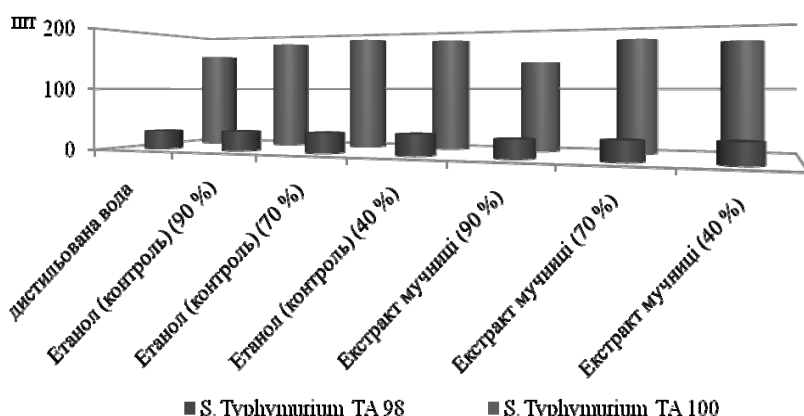


Рис. Вплив водно-етанольних екстрактів мучниці звичайної у розведенні 1:128 на спонтанний фон мутацій у тест-штамів *Salmonella typhimurium* TA98 і TA100.

Таблиця

Вплив водно-етанольних екстрактів мучниці звичайної у розведенні 1:128 на індукований біхроматом калію мутагенез у тест-штамів *S. typhimurium* TA 98 і TA 100

№ п/п	Екстракти	Вміст етанолу, %	Кількість ревертантів, шт	Пригнічення мутагенезу, %	Кількість ревертантів, шт	Пригнічення мутагенезу, %
			TA98		TA100	
1	Контроль (K ₂ Cr ₂ O ₇)		3800,67 ± 132,0		4895,23 ± 173,4	
2	Мучниця звичайна	90	2392,3 ± 283,0*	37	3009,33 ± 156,5*	39
		70	3335,3 ± 99,0*	12	3711,33 ± 127,4*	24
		40	3188,3 ± 58,0*	16	3049,33 ± 233,4*	38

Примітка: * – кількість мутацій достовірно відрізняється від позитивного контролю у тест-штамів *S. typhimurium* TA98 і TA100, p < 0,001–0,05.

фону дала підстави говорити про нездатність досліджуваних екстрактів усувати колонії-ревертанти, які утворилися в результаті впливу спонтанного фону [3].

Для дослідження антимутагенних властивостей *Arctostaphylos uvaursi* L. Spreng. в якості індуктора мутацій в тесті Еймса вибрано біхромат калію. Встановлено, що в концентрації 2 мг/мл він володіє вираженою мутагенною активністю відносно *Salmonella typhimurium* TA98 і TA100, про що свідчило збільшення частоти появи His⁺-ревертантів (мутація зсуву рамки зчитування та мутація типу заміни пар основ) відповідно у 130 і 31 рази відносно спонтанного фону (табл.).

Перевірені нами екстракти достовірно послаблювали індукований біхроматом калію мутагенез у *S. typhimurium* TA98, але з різною ефективністю (табл.).

Таким чином, результати досліджень свідчать, що виявлений нами пригнічуючий вплив досліджуваних водно-етанольних екстрактів мучниці звичайної на появу індукованих біхроматом калію His⁺-ревертантів *S. typhimurium* TA 98 і TA100 може бути пояснений її ДНК-протекторною здатністю.

Висновки.

1. Водно-етанольні екстракти мучниці звичайної володіють здатністю пригнічувати індукований біхроматом калію мутагенез *S. typhimurium* TA 98 і TA100.

2. Генопротекторні властивості мучниці звичайної відносно хімічно індукованих мутацій, пов'язаних із заміною пар основ нуклеотидів, проявляються у більшій мірі, ніж відносно мутацій із зсувом рамки зчитування.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні антимутагенних властивостей препаратів на основі мучниці звичайної на тест-системах з використанням мутагенів різної природи.

Література

1. Богдан Ю. М. Мутагенна і протекторна активність у бактеріальній та рослинній системах : автореф. дис. на здобуття наукового ступеня канд. біол. наук: спец. 03.00.07 «Мікробіологія» / Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України. / Ю. М. Богдан – К., 2010. – 24 с.

2. Ващенко Л. М. До механізму антимутагенної дії ліпосахаридів *Pseudomonas syringae* / Л. М. Ващенко // Мікробіологічний журнал. – 2005. – Т. 67, № 2. – С. 30 – 37.
3. Дуган А. М. Критерии учета мутагенных эффектов в тесте Эймса / А. М. Дуган, В. С. Журков, С. К. Абилов // Цитология и генетика. – 1999. – Т. 24, № 6. – С. 3 – 10.
4. Исследование фенольных соединений листьев голубики, брусники, толокнянки, черники и зимолоубки, произрастающих в республике Саха (Якутия) / Л. П. Охрименко, Г. И. Калинкина, Е. А. Лукша [и др.] // Химия растительного сырья. – 2009. – № 3. – С. 109 – 115.
5. Китанов Г. М. Содержание арбутина в *Arctostaphylos uva-ursi* L. Spreng. из разных районов народной республики Болгарии / Г. М. Китанов, Е. М. Генова, В. М. Руменин // Растительные ресурсы. – 1986. – № 3. – С. 425 – 431.
6. Тест-система оценки мутагенной активности, загрязнителей среды на *Salmonella*: Методические указания. / Л. М. Фонштейн, Л. М. Калинина, Г. Н. Полухина [и др.] – М., 1977. – 52с.
7. Фонштейн Л. М. Методические рекомендации по применению теста Эймса *Salmonella*/ микросомы / Л. М. Фонштейн – М., 1983. – 25 с.

УДК 582. 688+575. 224. 4+58. 085

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИМУТАГЕННИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ *ARCTOSTAPHYLOS UVA-URSI* L. SPRENG. В БАКТЕРІАЛЬНІЙ ТЕСТ-СИСТЕМІ НА ДОКЛІНІЧНОМУ ЕТАПІ

Фрич Н. І.

Резюме. У статті наведені результати вивчення антимутагенної активності 90, 70 та 40 % екстрактів мучниці звичайної в бактеріальній тест-системі *Salmonella typhimurium*. Модельним мутагеном для штамів *Salmonella typhimurium* TA98 і TA100 слугував біхромат калію. Встановлено, що найвищу антимутагенну активність на індукований біхроматом калію мутагенез у клітинах *S. typhimurium* TA98 проявили 90 % екстракти мучниці звичайної. В експерименті зі штамом TA 100 найкращі результати дали 90 та 40 % екстракти мучниці звичайної (39 і 38 % пригнічення мутагенності відповідно).

Таким чином, водно-етанольні екстракти мучниці звичайної володіють здатністю пригнічувати індукований біхроматом калію мутагенез *S. typhimurium* TA 98 і TA 100. Генопротекторні властивості мучниці звичайної відносно хімічно індукованих мутацій, пов'язаних із заміною пар основ нуклеотидів, проявляються у більшій мірі, ніж відносно мутацій із зсувом рамки зчитування.

Ключові слова: антимутагенна активність, тест Еймса, тест-штами *Salmonella typhimurium* TA98 і TA100.

УДК 582. 688+575. 224. 4+58. 085

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМУТАГЕННЫХ СВОЙСТВ ЭКСТРАКТОВ *ARCTOSTAPHYLOS UVA-URSI* L. SPRENG. В БАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЕ НА ДОКЛИНИЧЕСКОМ ЭТАПЕ

Фрич Н. И.

Резюме. В статье приведенные результаты изучения антимутагенной активности 90, 70 и 40 % экстрактов толокнянки обыкновенной в бактериальной тест-системе *Salmonella typhimurium*. Модельным мутагеном для штаммов *Salmonella typhimurium* TA98 и TA100 служил бихромат калия. Установлено, что наивысшую антимутагенную активность на индуцируемый бихроматом калия мутагенез в клетках *S. typhimurium* TA98 проявили 90 % экстракты толокнянки обыкновенной. В эксперименте со штаммом TA 100 наилучшие результаты дали 90 и 40 % экстракты толокнянки обыкновенной (39 и 38 % угнетение мутагенности соответственно).

Таким образом, водно-этанольные экстракты толокнянки обыкновенной владеют способностью подавлять индуцируемый бихроматом калия мутагенез *S. typhimurium* TA 98 и TA100. Генопротекторные свойства толокнянки обыкновенной относительно химически индуцируемых мутаций, связанных с заменой пар основ нуклеотидов, проявляются в большей мере, чем относительно мутаций со сдвигом рамки считывания.

Ключевые слова: антимутагенная активность, тест Эймса, тестовые штаммы *Salmonella typhimurium* TA98 и TA100.

UDC 582. 688+575. 224. 4+58. 085

Research of Antimutagenic Properties of *Arctostaphylos Uva-Ursi* L. Spreng. in Bacterial Test-System on the Preclinical Stage

Frych N.

Abstract. In this publication the results of the study of antimutagenic activity of 90, 70 and 40 % aqueous-ethanolic extracts of *Arctostaphylos uva-ursi* in the bacterial test system *Salmonella typhimurium* have been studied. According to the aim antimutagenic properties of aqueous-ethanolic extracts of *Arctostaphylos uva-ursi* were set. Strains of *Salmonella typhimurium* TA98 (frameshift mutations) and TA100 (base-pair substitution) were the object of the study. Bichromate potassium was the model mutagen for *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100. Distilled water was used as a control. The results of the first series of experiments to identify the possible mutagenic effects of aqueous-ethanolic extracts of *Arctostaphylos uva-ursi* (90, 70 and 40 %) and extractants (ethanol solutions) showed that aqueous-ethanolic extracts not induced gene mutations in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100.

The results of investigation of antimutagenic properties of *Arctostaphylos uva-ursi* L. Spreng. showed that bichromate potassium (in a concentration of 2 mg/ml) has pronounced the mutagenic activity on *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100. The number of His-revertants in *Salmonella typhimurium* TA98 (frameshift mutations) increased in 130 times and in *Salmonella typhimurium* TA100 (base-pair substitution) increased in 31 times comparing with spontaneous background.

Aqueous-ethanolic extracts of *Arctostaphylos uva-ursi* L. Spreng. weakened significantly the mutagenesis in *S. typhimurium* TA98 induced by bichromate potassium. The best result was shown by 90% aqueous-ethanolic extracts of *Arctostaphylos uva-ursi*. It reduced the number of mutations induced by potassium dichromate in 37% ($p < 0.001 - 0.05$).

In the experiment with *S. typhimurium* TA 100 90% aqueous-ethanolic extracts of *Arctostaphylos uva-ursi* L. Spreng., as in the previous experiment with *S. typhimurium* TA98, showed a marked antimutagenic effect (the degree of inhibition of mutagenesis induced by bichromate potassium was 39%). 40% aqueous-ethanolic extracts of *Arctostaphylos uva-ursi* L. Spreng. showed good results also (38% inhibition of mutagenicity).

So, aqueous-ethanolic extracts of *Arctostaphylos uva-ursi* have the ability to inhibit mutagenesis in *S. typhimurium* TA 98 and TA100 induced by bichromate potassium. Genoprotective properties of *Arctostaphylos uva-ursi* relatively chemically induced mutations associated with the replacement of base pairs of nucleotides, appear relatively better than reading-frameshift mutations.

Keywords: antimutagenic activity, Ames test, test strains *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100.

Рецензент – проф. Дев'яткіна Т. О.

Стаття надійшла 4. 02. 2015 р.