

УДК 575.244.46

*Н.Г. Стрижельчик, Л.В. Яковлева**Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
Національний фармацевтичний університет***ОЦІНКА МУТАГЕННИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ НОВОГО
ЛІКАРСЬКОГО ПРЕПАРАТУ ПРИ ДІЇ НА ЩУРЯТ РІЗНОГО ВІКУ**

Досліджені потенційні мутагенні властивості лікарського препарату Ацетазоламід шляхом оцінки доміантних летальних мутацій у зародкових клітинах ссавців. Дослідження проведено на щурятах різного віку (3 та 6 тижнів). Встановлено, що вплив препарату на рівень адаптивних властивостей та мутагенезу в статевих клітинах залежить як від віку тварин, так і від дози препарату. Ацетазоламід при введенні статевонезрілим щурятам у дозі 10 мг/кг практично не знижує плодючості тварин і не індукує достовірного підвищення частоти доміантних летальних мутацій. Проте у дозі 100 мг/кг препарат здатний чинити негативний вплив на генетичний апарат статевих клітин ссавців – знижувати відсоток фертильності та індукувати статистично значуще підвищення частоти летальних мутацій у зародкових клітинах.

Ключові слова: ацетазоламід, статеві клітини, фертильність, плодючість, живі та мертві ембріони, мутагенність.

Ураження геному людини призводить до появи різноманітної патології. Причому на різних етапах онтогенезу внесок різних ушкоджень у розвиток патологічних процесів може змінюватися. Проблема генетичних наслідків хімічного мутагенезу має багато аспектів, одним з яких є лікарський мутагенез. Бурхливий розвиток фармакології та фармацевтичної промисловості призводить до того, що практично кожна людина стає об'єктом впливу лікарських препаратів. Основними вимогами до лікарських препаратів є їх ефективність і безпечність [1, 2]. Проте велика кількість досліджень на різних біологічних об'єктах показала наявність мутагенної й канцерогенної активності у багатьох із них [3–5].

У зв'язку з цим гостро постає проблема запобігання негативного впливу мутагенів різної природи на геном статевих клітин людини. Профілактика індукованого мутагенезу базується на широкому генетичному скринінгу. Реальна небезпека віддалених патогенетичних наслідків індукованого мутагенезу потребує проведення досліджень, спрямованих, з одного боку, на виявлення та усунення мутагенів з оточуючого середовища, з іншого – на пошук засобів захисту людини від мутагенних впливів [3].

Метою дослідження було вивчення мутагенних властивостей нового лікарського препарату Ацетазоламід при внутрішньошлунковому введенні статевонезрілим щурятам.

Матеріал і методи. Дослідження мутагенних властивостей нового лікарського препарату Ацетазоламід проведено на білих нелінійних щурятах-самцях віком 3 та 6 тижнів. Використано метод обліку доміантних летальних мутацій у зародкових клітинах ссавців, який дозволяє виявити вплив препарату на генетичні структури статевих клітин [4–5]. Ацетазоламід (суспензію) вводили внутрішньошлунково самцям щурят з інтервалом 24 год, протягом 56 діб, що відповідає періоду сперматогенезу у щурів. В кожному варіанті дослідів використовували не менше ніж 15 самців і 45 самок. Використовувалися дві дози: 10 мг/кг (умовно-терапевтична доза) та 100 мг/кг (умовно-терапевтична доза, збільшена у 10 разів).

Після закінчення введення препарату самці знаходились у стандартних умовах віварію до досягнення статевої зрілості. У віці 4 місяці (статева зрілість) до самців підсаджували віргінних інтактних самок у співвідношенні 1 : 3. Відсаджених від самців самок аналізували на 19-й – 20-й день вагітності. Тва-

рин знеживлювали шляхом декапітації під легким ефірним наркозом і проводили облік стандартних показників: кількості самок, кількості вагітних самок, відсотка фертильності, кількості місць імплантації, кількості живих та мертвих ембріонів на одну вагітну самку, відсотка постімплантаційних втрат. Основним показником рівня доміантних летальних мутацій є частота постімплантаційних втрат [4, 5]. Висновок про мутагенну (або не мутагенну) дію препарату ґрунтується на порівнянні частоти індукованих летальних мутацій у досліді та контролі.

Статистичний аналіз одержаних результатів проводили за допомогою критерію χ^2 та критерію Стьюдента t [6].

Результати та їх обговорення. Результати досліджень мутагенних властивостей препарату Ацетазоламід наведені в таблиці. В контрольній групі тварин кількість жовтих тіл на одну самку та інші показники знаходились у межах фізіологічної норми [7].

нижче, ніж у контролі, і складала 60,0 %. Кількість місць імплантації дорівнювала $9,8 \pm 0,51$. Встановлено незначне зниження кількості живих ембріонів ($9,0 \pm 0,46$) і збільшення кількості мертвих ($0,86 \pm 0,15$) на одну вагітну самку, проте достовірних змін у порівнянні з контролем встановлено не було. У цій дозі ацетазоламід викликав незначне збільшення показників постімплантаційної летальності, але статистично значущого підвищення у порівнянні з контролем не виявлено. Рівень доміантних летальних мутацій складав 8,3 % ($\chi^2=0,73$; $p=0,16$).

При дії ацетазоламіду на щурів 1-ї вікової групи в дозі 100 мг/кг виявлено достовірне зниження фертильності у порівнянні з контролем на 24,4 %. Фертильність складала 44,4 %. В цій експериментальній групі спостерігалось значне достовірне збільшення кількості мертвих на 79 % порівняно з контролем. Кількість мертвих ембріонів на одну вагітну самку дорівнювала $1,20 \pm 0,18$.

Вплив препарату Ацетазоламід у дозах 10 та 100 мг/кг на рівень адаптивних можливостей і мутагенезу у статевих клітинах щурят

Показник	Групи тварин, що отримали ацетазоламід у дозі		
	контроль	10 мг/кг	100 мг/кг
<i>Щурята віком 3 тижні</i>			
Кількість вагітних самок	31	27	20
Фертильність, %	68,8	60,0	44,4
Кількість місць імплантації, $M \pm m$	$10,05 \pm 0,31$	$9,8 \pm 0,51$	$10,5 \pm 0,62$
Кількість на 1 вагітну самку			
живих ембріонів	$9,8 \pm 0,32$	$9,0 \pm 0,46$	$9,3 \pm 0,69$
мертвих ембріонів	$0,67 \pm 0,16$	$0,86 \pm 0,15$	$1,2 \pm 0,18$
Рівень доміантних летальних мутацій	6,0	8,3	11,3
<i>Щурята віком 6 тижнів</i>			
Кількість вагітних самок	31	28	24
Фертильність, %	68,8	62,2	53,3
Кількість місць імплантації, $M \pm m$	$10,9 \pm 1,1$	$9,9 \pm 0,94$	$9,8 \pm 0,93$
Кількість на 1 вагітну самку			
живих ембріонів	$10,1 \pm 1,0$	$9,0 \pm 0,87$	$8,6 \pm 0,85$
мертвих ембріонів	$0,64 \pm 0,16$	$0,89 \pm 0,24$	$1,2 \pm 0,23$
Рівень доміантних летальних мутацій	6,0	9,0	12,2

Як видно із даних таблиці, при дії ацетазоламіду в дозі 10 мг/кг на щурів 1-ї вікової групи (3 тижні) не встановлено достовірного негативного впливу на генетичний апарат їх статевих клітин. Показники фертильності та плодючості тварин практично не відрізнялись від таких у контролі. Фертильність була на 18,8 %

Крім того, встановлено значне статистично значуще підвищення частоти постімплантаційних втрат. У цій експериментальній групі частота доміантних летальних мутацій складала 11,3 %. Проте одержана різниця була на межі достовірності у порівнянні з контролем ($\chi^2=3,7$; $p>0,05$).

За умов внутрішньошлункового введення ацетазоламід у дозах 10 та 100 мг/кг щурам 2-ї вікової групи (6 тижнів) було отримано подібні результати (таблиця).

При дії ацетазоламід у дозі 10 мг/кг не виявлено достовірного негативного впливу на генетичний апарат статевих клітин щурят. Показники фертильності та плодючості тварин практично не відрізнялись від таких у контролі. Фертильність склала 62,2 %. Кількість місць імплантацій дорівнювала $9,9 \pm 0,94$. Встановлено незначне зниження кількості живих ембріонів і збільшення кількості мертвих ембріонів на одну вагітну самку, проте достовірних змін у порівнянні з контролем встановлено не було.

У цій дозі ацетазоламід викликав незначне збільшення показників постімплантаційної летальності, але статистично значущого підвищення у порівнянні з контролем не виявлено. Рівень домінантних летальних мутацій склав 9,0 % ($\chi^2=1,9$; $p=0,16$).

При дії ацетазоламід у дозі 100 мг/кг виявлено зниження відсотка фертильності у порівнянні з контролем на 22,6 %. Фертильність склала 53,3 %. В цій експериментальній групі спостерігали більш значне зниження кількості живих ембріонів на 14 % – $8,6 \pm 0,85$ та збільшення кількості мертвих на 87 % – $1,2 \pm 0,2$ на одну вагітну самку порівняно з контролем.

Встановлено також значне статистично значуще збільшення частоти постімплантаційних втрат у порівнянні з контролем (на 100 %). Частота домінантних летальних мутацій у цій

експериментальній групі складала 12,2 % ($\chi^2=6,8$; $p=0,009$).

Висновки

1. Встановлено, що препарат Ацетазоламід у дозі 10 мг/кг (умовно-терапевтична доза) не спричиняє достовірного негативного впливу на рівень адаптивних можливостей і мутагенезу в статевих клітинах щурят різного віку – відсоток фертильності, кількість живих і мертвих ембріонів на одну вагітну самку достовірно не відрізняються від контрольних значень, не визначено також підвищення частоти домінантних летальних мутацій.

2. Препарат Ацетазоламід у дозі 100 мг/кг (умовно-терапевтична доза, збільшена в 10 разів) здатний негативно впливати на геном ссавців.

3. Відзначені особливості дії препарату на різні вікові групи. За умов впливу ацетазоламід у першу вікову групу щурят (3 тижні) встановлено достовірне зниження відсотка фертильності та тенденцію до підвищення частоти домінантних летальних мутацій; при дії на другу вікову групу (6 тижнів) відзначено тенденцію до зниження відсотка фертильності та значне статистично значуще підвищення частоти домінантних летальних мутацій.

Перспективність дослідження: необхідно продовжити тестування потенційної мутагенної активності лікарського препарату Ацетазоламід з використанням методів, що дозволяють оцінити мутагенні ефекти не лише у статевих, а й у соматичних клітинах ссавців.

Література

1. *Бариляк І.Р.* Генофонд народонаселення України і сучасний стан та нові підходи до проблеми захисту і збереження / І.Р. Бариляк, Г.Д. Бердишев О.В. Бонь // Цитология и генетика. – К., 2001. – Т. 35, № 1. – С. 66–71.
2. *Бариляк І.А.* Актуальні питання профілактики спадкової патології / І.Р. Бариляк // Український конгрес з клінічної генетики з міжнародною участю «Метаболічні спадкові захворювання». – Харків, 2003. – С. 10.
3. *Дурнев А.Д.* Мутагены – скрининг и фармакологическая профилактика воздействия / А.Д. Дурнев, С.Б. Середенин. – М. : Медицина, 1998. – 327 с.
4. Оцінка мутагенних властивостей нових лікарських засобів // І.Р. Бариляк, Л.В. Неумержицька, О.М. Дуган [та ін.] // Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації). – К. : ФК МЗ України, 2000. – С. 166–186.
5. Оценка мутагенных свойств фармакологических средств. Методические рекомендации // Ведомости фармакологического факультета. – М., 1998. – № 4. – 30 с.
6. *Лакин Г.Ф.* Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М. : Высш. шк., 1990. – 352 с.

Н.Г. Стрижельчик, Л.В. Яковлева

**ИССЛЕДОВАНИЕ МУТАГЕННЫХ СВОЙСТВ НОВОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА
ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НА КРЫСЯТ РАЗНОГО ВОЗРАСТА**

Исследованы потенциальные мутагенные свойства лекарственного препарата Ацетазоламид методом оценки доминантных летальных мутаций в зародышевых клетках млекопитающих. Исследования проведены на крысятах разного возраста (3 и 6 недель). Установлено, что влияние препарата на уровень адаптационных возможностей и мутагенеза в половых клетках зависит как от возраста крысят, так и от дозы препарата. Ацетазоламид при введении половонезрелым крысятам в дозе 10 мг/кг практически не снижает плодовитость животных и не вызывает достоверного повышения частоты летальных мутаций. Однако в дозе 100 мг/кг препарат способен оказывать негативное действие на генетический аппарат половых клеток млекопитающих – снижать процент фертильности и индуцировать статистически значимое повышение частоты летальных мутаций в зародышевых клетках.

Ключевые слова: ацетазоламид, половые клетки, фертильность, плодовитость, живые и мертвые эмбрионы, мутагенность.

N.G. Stryzhelchuk, L.V. Iakovleva

**RESEARCH OF MUTAGENOIS PROPERTIES OF NEW MEDICINAL PREPARATION ON EXPOSURE TO
RATS OF DIFFERENT AGE**

The studies of potential mutagene properties of medicinal preparation Acetazolamide have been undertaken by means of the account of dominant lethal mutations in the mammal germ cells. Researches have been conducted on rats of different age (3 and 6 weeks). It have been shown that the influence of preparation on the level of adaptive properties and mutagenesis in gametes depends both on age of animals and on the dose of preparation. Acetazolamid on exposure to the immature rats in a dose of 10 mg/kg did not virtually reduce fecundity of animals and did not induce the reliable increase the frequency of dominant lethal mutations. However, in a dose of 100 mg/kg the preparation was able to render negative influence on the genetic apparatus of mammal gametes – the decrease of the fertility percentage and induction of statistically meaningful frequency increase of lethal mutations in germ cells.

Key words: Acetazolamide, gametes, fecundity, fertility, alive and dead embryos, mutagenicity.

Поступила 16.04.14