

ВПЛИВ ШУНГІТУ НА СТАБІЛЬНІСТЬ ХРОМОСОМ *ALLIUM FISTULOSUM L.*

Останнім часом наука, з вимог медицини, пропонує при лікуванні різного спектра захворювань використовувати препарати природного походження. Відповідно до цього, привертає увагу шунгіт (за назвою населеного пункту Шуньга, Карелія, РФ) – мінерал нового покоління природних мінеральних сорбентів, проміжний продукт між аморфним вуглецем та кристалічним графітом [1].

Шунгіти мають ажурну силікатну решітку, порожнини якої заповнені шунгітовим вуглецем. Шунгітовий вуглець, за останніми даними, є скаменілою речовиною органічних донних відкладень високого рівня карбонізації вуглецю з вмістом фулереноподібних структур від 0,0001 до 0,001 мас. % [2]. Крім того, в шунгітовому вуглеці наявні органічні низько- та високомолекулярні сполуки невизначеного хімічного складу. Шунгіт відрізняється від графіту відсутністю кристалічної решітки, від вугілля та бітумів – двомірною структурою і невеликим вмістом летючих компонентів [3].

Шунгіти розрізняються за складом мінеральної основи (алюмосилікатної, кременистої, карбонатної) та поділяються на маловуглецеві (до 5 % C у складі), середньовуглецеві (5–25 % C) та високовуглецеві (25–80 % C). Шунгіт містить крім силікатів, кварцу, вуглецю ще і пірит, рутил, молібденіт, польові шпати, біотит, халькопірит, F-апатит, монацит, циркон, барит, самородні залізо, свинець, вольфрам, золото [4], та в невеликих кількостях інші хімічні елементи [2].

Спочатку шунгіт використовувався в ливарному виробництві, у виробництві термостійких фарб та антипригарних покриттів, та як наповнювач гуми. Пізніше було виявлено інші цінні властивості, які дозволили використовувати шунгіт в різноманітних галузях науки, промисловості і техніки.

Дослідження адсорбційних властивостей карельського шунгіту показало високу ефективність у очищенні води, що містить різні органічні та хлорорганічні домішки [5, 6], а при наявності контакту з атмосферним киснем і тривалим проміжком часу шунгіт каталізує окислення остан-

ніх до діоксиду вуглецю [3]. Також показано, що шунгіт виводить вільні радикали з води в 30 разів ефективніше, ніж активоване вугілля [7].

Увагу вчених привернули також бактеріцидні властивості шунгіту – він адсорбційно активний відносно деяких бактеріальних клітин, фагів, патогенних сапрофітів [8].

Група вчених під керівництвом Г. В. Андрієвського із Харківського інституту терапії Академії медичних наук України першою довела, що особливі властивості шунгіту пов'язані з наявністю фулеренів.

Фулерени вперше були відкриті в 1985 році при лазерному опроміненні твердого графіту [9]. Пізніше фулереноподібні структури були виявлені не лише в графіті, але і в сажі, що утворюється в дуговому розряді на графітових електродах, після чого почався їх активний пошук в природі [10–12].

Найбільш вивчений бакмінстерфулерен C₆₀. Він має унікальні фізичні та хімічні властивості, які обумовлені своєрідністю будови молекул фулеренів [13]. Фулерен у шунгітовому вуглеці знаходиться у вигляді особливих, полярних донорно-акцепторних комплексів з природними органічними низько- та високомолекулярними сполуками і, виявилось, що його синтетичний аналог нерозчинний у воді. Однак шляхом послідовних перетворень отримано водний розчин синтетичного фулерену, що отримав назву гідратованого фулерену C₆₀ (HyFn) [14].

Вміщуючи всередину вуглецевих кластерів різні атоми й молекули можна створювати різноманітні матеріали та сорбенти з широким спектром фізико-хімічних властивостей [15]. Оскільки через високу електронегативність фулерени виступають в хімічних реакціях як потужні окислювачі, то, приєднуючи до себе радикали різної хімічної природи, вони здатні утворювати широкий клас хімічних речовин, які мають різноманітні фізико-хімічні властивості [16].

Використання фулеренів в біохімії та медицині пов'язане з наявністю високої антиоксидантної активності [17]. Розроблено умови синтезу противірусних та протиракових препаратів

на основі фулеренів, які зможуть вибірково діяти на клітини ракових пухлин, перешкоджаючи їх подальшому розмноженню [18], також інгібувати запалювальний процес при алергійних реакціях [19]. Є дані про можливість використання фулеренів в засобах для лікування ВІЛ [20]. Слід зазначити, що при цьому C60 (HyFn) та його хімічно модифіковані аналоги не виявляють ознак токсичності навіть у високих дозах [21, 22], при введенні в організм ссавців в дозах аж до 2,5 г/кг ваги тіла [23].

Фулерен C60 демонструє високу стабільність до дії іонізуючої радіації у високих дозах [24, 25]. Виявлено стабілізуючу дію C60 (HyFn) в малих та надмалих дозах (10^{-7} М – 10^{-23} М) на бактеріальну люциферазу, пероксидазу та лужну фосфатазу, які піддавались нагріванню до 800 °С (HyFn) в надмалих дозах модулює ефект окислювачів, відновлювачів та антиоксидантів на ферменти [26, 27].

Однак слід зазначити, що не в усіх зразках шунгіту, наданих для досліджень Інститутом геології Карельського НЦ РАН (Петрозаводськ, РФ), і відібраних із різних районів залягання шунгітових порід був виявлений фулерен C60. Лише один зразок високовуглецевого (більш ніж 80 % вуглецю) шунгіту мав в своєму складі фулерен C60, причому масова частка його складала лише 0,04 %. У той же час, добре відомо, що до складу шунгітів входить велика кількість домішок, у тому числі іонів важких полівалентних металів [28].

Безпосередньо анотація до препарату стверджує, що шунгіт – універсальний сорбент, якому немає рівних за здатністю очищати воду від шкідливих домішок. Також наголошується, що шунгіт має властивість структурувати воду та робити її біологічно активною і має бактерицидні властивості та антигістамінний ефект.

З огляду літератури ми бачимо, що у зразках шунгіту окрім вуглецевих утворень – фулеренів, з якими пов'язують його високу антиоксидантну здатність, є ще багато різних неорганічних і низькомолекулярних органічних сполук, дія яких на живі організми, найчастіше, суперечлива.

Майже немає публікацій, які б висвітлювали вплив шунгіту на спадковий матеріал. Враховуючи вищесказане метою нашої роботи було дослідження впливу обробленої шунгітом води на стабільність хромосом в *Allium*-тесті. Як модельний об'єкт використовували цибулю батун (*Allium fistulosum* L.), зважаючи на його високу чутливість до впливу зовнішніх факторів [29].

Матеріали і методи

У досліді використовували насіння *A. fistulosum* різних років репродукції з метою оцінки чутливості хромосом насіння різного віку до впливу шунгіту. Насіння генетично однорідне, зібране з однієї і тієї ж ділянки протягом кількох років. На момент проведення досліду вік насіння складав 18, 30 та 42 місяці. Насіння зберігалося у лабораторних умовах, у темній шафі, за кімнатної температури в скляному негерметично закритому посуді.

Пророщували насіння одномоментно у термостаті за температури 24 °С протягом 72 годин. Як контроль використовували дистильовану воду. В дослідних варіантах насіння пророщували у дистильованій воді, обробленій шунгітом відповідно до наданої інструкції (шунгіт придбано у аптеці). Проростки довжиною 4–9 мм фіксували у фіксаторі Кларка (суміш 96 % етилового спирту та льодяної оцтової кислоти у співвідношенні 3:1). Для аналізу аберацій хромосом готували тимчасові давлені препарати з меристеми коренів, фарбовані ацетоорсеїном. Клітини аналізували на стадії анафази і ранньої телофази. На 72 годину після замочування насіння обчислювали його схожість з метою визначення життєздатності насіння в дослідних варіантах [30]. Для аналізу отриманих даних застосовували стандартні математичні методи [31].

Результати та обговорення

Аналіз схожості насіння показав відсутність помітного впливу обробленої шунгітом води на життєздатність проростків батуну з насіння різного віку.

При зберіганні насіння за звичайних умов нестабільність хромосом (ХН) зростає – збільшується частота анафазних клітин з абераціями. На рисунку показано приклади деяких видів аберацій хромосом у *A. fistulosum* (рис. 1).

Раніше було показано, що розвиток нестабільності хромосом при тривалому зберіганні має коливальний характер і швидкість наростання хромосомної нестабільності залежить від сумарного впливу зовнішніх факторів (екологічних, погодних, тощо) [32–36]. При чому, що більша швидкість наростання нестабільності хромосом, то більша амплітуда коливань частоти абераційних анафаз (ЧАА).

Результати проведеного нами дослідження наведені в таблиці 1. Як видно з даних таблиці стабільність хромосом в клітинах кореневої меристеми проростків батуну з насіння різного віку

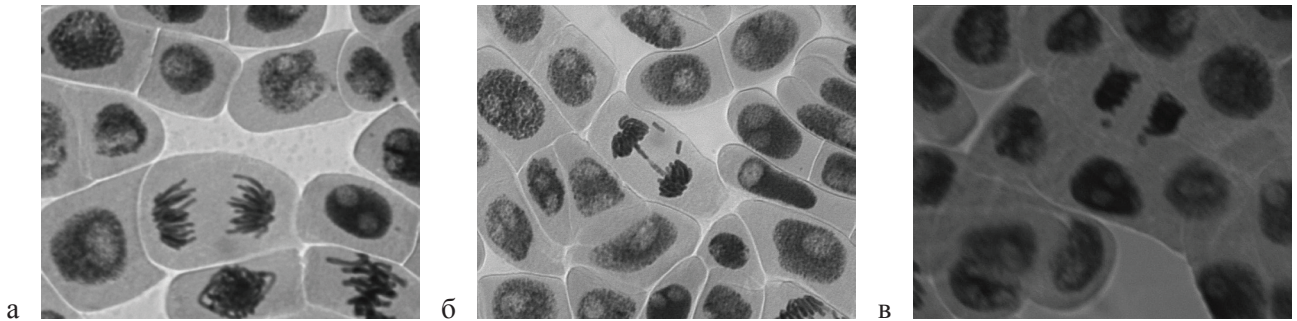


Рис. 1. Клітини апікальної меристеми на стадії анафази та телофази мітозу: а – нормальний поділ; б – хромосомний міст і два фрагменти; в – два фрагменти

при пророщуванні у воді, обробленій шунгітом, помітно вища порівняно з контрольними варіантами (різниця статистично достовірна). Не виключено, що генотоксичний ефект шунгіту пояснюється наявністю в його складі фулеренів.

Відсутність вікової різниці ЧАА у різновіковому насінні (30 та 42 місяці) може пояснюва-

тись різною швидкістю наростання ХН у насінні різних років репродукції, а також різною амплітудою коливань у різновіковому насінні, тому ми спостерігаємо таку зміну значення ЧАА від 13,28 % до 26,15 % – відповідно до збільшення віку насіння (табл. 1).

Висновки

Отже, природний мінерал шунгіт змінює якість води, що настояна на ньому впродовж 3-х діб. При дослідженні впливу цієї води на хромосоми, виявлено достовірне зниження частоти аберантних анафаз. Тобто, настояна на шунгіті вода позитивно впливає на стабільність хромосом. Це може бути спричинено і впливом фулеренів, як визнаних антиоксидантів, і іншими сполуками, що розчиняються у воді, а також впливом усього комплексу речовин одночасно, коли дія компонентів підсумовується.

Таблиця 1

Частота аберантних анафаз отримана у дослідженні впливу на стабільність геному дистильованої води та настояної на шунгіті в *Allium*-тесті

Варіанти досліджу Вік насіння	ЧАА ± m, %	
	дистиллят	шунгіт
18 місяців	13,28 ± 2,04	7,57 ± 1,56 **
30 місяців	29,47 ± 3,29	20,68 ± 2,26 **
42 місяці	26,15 ± 2,97	19,53 ± 3,54

Примітка: ** – різниця з контролем достовірна при $p < 0,01$.

ЛІТЕРАТУРА

1. Филипов М.М. Шунгитоносные породы Карелии – чёрная Олонецкая земля, аспидный сланец, антрацит, шунгит. – Карельский научный центр РАН, Петрозаводск, 2004. – 488 с.
2. Игнатов И., Мосин О.В. Институт Государственного управления, права и инновационных технологий (ИГУПИТ) [Электронный ресурс] // Интернет-журнал «Науковедение». – Вып. 2, март – апрель 2014. – Режим доступа: <http://naukovedenie.ru/PDF/12TVN214.pdf>
3. Калинин Ю.К., Калинин А.И., Скоробогатов Г.А. Шунгиты Карелии – для новых стройматериалов, в химическом синтезе, газоочистке, водоподготовке и медицине. – СПб.: УНЦХ СПбГУ, ВВМ, 2008. – 220 с.
4. Садовничий Р.В., Рожкова Н.Н. Минеральные ассоциации высокоуглеродистых шунгитовых пород Максовской залежи (Онежская структура) // Труды Карельского научного центра Российской академии наук. – 2014. – Вып. 1. – С. 148–157.
5. Скоробогатов Г.А., Калинин А.И., Калинин Ю.К. «Каталитическое окисление органических микропримесей в воде над мелкодисперсным шунгитом – III при 20 град С» // Журнал органическая химия. – 1995. – 31, вып. 6. – С. 947–951.
6. Скоробогатова Г.А., Гончаров Г.Н., Ашмарова Ю.А. Ионообменные и адсорбционные свойства карельских шунгитов, контактирующих с водой // Экологическая химия. – 2012. – 21 (1). – С. 10–16.
7. Рожкова Н.Н. Изменение свойств шунгитов, обусловленное взаимодействием с водой. Шунгиты и безопасность жизнедеятельности человека // Материалы первой всероссийской научно-практической конференции (3–5 октября 2006 г.) / под ред. Ю.К. Калинина. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2007. – С. 126.
8. Кибардин Г.М. Шунгит и его целебные свойства. – М.: Амрита-Русь, 2010. – 48 с.
9. Kroto H.W., Heath J.R., O'Brien S.C. C60: Buckminsterfullerene // Nature. – 1985. – 318. – P. 162–168.
10. Buseck P.R., Tshipursky S.J., Hettich R. Fullerenes from the Geological Environment // Science. – 1992. P. 215–217. DOI: 10.1126/science.257.5067.215.

11. Резников В.А., Полеховский Ю.С. Аморфный шунгитовый углерод – естественная среда образования фуллеренов // Письма в ЖТФ. – 2000. – 26, вып. 15. – С. 94–102.
12. Buseck P.R. Geological fullerenes: review and analysis // Earth and Planetary Science Letters. – 2002. – 203, N 3–4. – P. 781–792.
13. Елецкий А.В., Смирнов Б.М. «Кластер C60 – новая форма углерода» // Успехи физических наук. – 1991. – 161, № 7. – С. 173–192.
14. Andrievsky G.V., Kosevich M.V., Vovk O.M., Shelkovsky V.S., Vashchenko L.A. On the production of an aqueous colloidal solution of fullerenes // J. Chem. Soc. Chem. Commun. – 1995. – 12. – P. 1281–1282.
15. Елецкий А.В., Смирнов Б.М. Фуллерены и структура углерода // Успехи физических наук. – 1995. – № 9. – С. 32–36.
16. Пиотровский Л.Б. Фуллерены в биологии и медицине: проблемы и перспективы // Фундаментальные направления молекулярной медицины: Сб. статей. Спб.: Росток, 2005. – С. 195–268.
17. Мчедлов-Петросян Н.О. Растворы фуллерена C60: коллоидный аспект // «Хімія, фізика та технологія поверхні». – 2010. – 1, № 1. – С. 19–37.
18. Andrievsky G.V., Bruskov V.I., Tykhomyrov A.A., Gudkov S.V. Peculiarities of the antioxidant and radioprotective effects of hydrated C60 fullerene nanostructures in vitro and in vivo // Free Radical Biology & Medicine. – 2009. – 47. – P. 786–793.
19. John J. Ryan, Henry R. Bateman, Alex Stover, Greg Gomes, Sarah K. Norton, We Zhao Lawrens B. Schwartz, Robert Lenk, Cristopher L. Kepley Fullerene Nanomaterials Inhibit the Allergic Response // The Journal of Immunology. – 2007. – 179. – С. 665–672. – PMID 17579089.
20. Friedman S.H., DeCamp D.L., Sijbesma R.P., Sradanov G., Wuld F., Kenyon G.L. Inhibition of the HIV-1 protease by fullerene derivatives: model building studies and experimental verification // J. Am. Chem. Soc. – 1993. – 115. – № 15. – С. 6506–6509. DOI: 10.1021/ja00068a005.
21. Andrievsky G.V., Klochkov V.K., Derevyanchenko L.I. Is C60 fullerene molecule toxic?! // Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures. – 2005. – 13. – P. 363–376.
22. Vaati T., Bourasset F., Gharbi N., Njim L., Abderrabba M., Kerkeni A., Szwarc H., Moussa F. The prolongation of the lifespan of rats by repeated oral administration of 60 fullerene // Biomaterials. – 2012. – 33. – P. 4936–4946.
23. Gharbi N., Pressac M., Hadchouel M., Szwarc H., Wilson H., Moussa F. [60] Fullerene is an in vivo powerful antioxidant with no acute or sub-acute toxicity // Nano Lett. – 2005. – 5. – P. 2578–2585.
24. Albarran G., Basiuk V.A., Basiuk E.V., Saniger J.M. Stability of interstellar fullerenes under high-dose γ -irradiation // Adv. Space Res. – 2004. – 33. – P. 72–75.
25. Гудков С.В., Штаркман И.Н., Асадуллина Н.Р., Гармаш С.А., Карп О.Э., Андриевский Г.В., Недзвецкий В.С., Тихомиров А.А. ДНК-защитные и радиопротекторные эффекты гидратированного фуллерена C60 // Физика живого. – 2009. – 17, № 1. – С. 82–88.
26. Яблонская О.И., Воейков В.Л. Влияние гидратированных фуллеренов в сверхмалых дозах на стабильность ряда ферментов и на флуктуации их активности // Тезисы докладов VIII Международной конференции «Биоантиоксидант», 4–6 октября 2010 г. – М.: РУДН, 2010 – С. 534–536.
27. Yablonskaya O.I., Voeikov V.L., Vilenskaya N.D., Malishenko S.I., Novikov K.N. Effects of hydrated fullerenes on the luminescence of bacterial luciferase, of whole blood and of bicarbonate water solutions // 17th International Symposium on Bioluminescence and Chemiluminescence – ISBC. 2012. – Luminescence, 2012. – 27, N 2. – P. 175.
28. Рожкова Н.Н., Андриевский Г.В. Фуллерены в шунгитовом углероде. // Сб. научн. трудов международного симпозиума «Фуллерены и фуллереноподобные структуры», 5–8 июня 2000 г. – Минск: БГУ, 2000. – С. 63–69.
29. Куцоконь Н.К., Лазаренко Л.М., Безруков В.Ф., Рашидов Н.М., Гродзинський Д.М. Кількість аберацій на аберантну клітину як параметр хромосомної нестабільності. Порівняльний аналіз впливу факторів різної природи // Цитология и генетика. – 2004. – 37, № 1 – С. 55–62.
30. Гостимский С.А., Дьякова М.И., Ивановская Е.В., Монахова М.А. Практикум по цитогенетике: методическое пособие. – Изд-во Москов. ун-та, 1974. – 171 с.
31. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высш. школа, 1990. – 349 с.
32. Лазаренко Л.М., Безруков В.Ф. Динамика хромосомной нестабильности батуна (*Allium fistulosum* L.): гамма облучение семян разного срока хранения // Цитология и генетика. – 2006. – 40, № 4. – С. 31–36.
33. Лазаренко Л.М., Безруков В.Ф. Модифікація вікової динаміки хромосомної нестабільності в насінні батуна (*Allium fistulosum* L.) під впливом перманганату калію. // Фактори експериментальної еволюції організмів : зб. наук. пр. / Під ред. В.А. Кунаха [та ін.]. – К.: Логос, 2006. – 3 – С. 359–363.
34. Лазаренко Л.М., Безруков В.Ф. Динаміка хромосомної нестабільності в насінні батуна (*Allium fistulosum* L.) різних років репродукції // Вісник Прикарпатського національного університету ім. Василя Стефаника. Серія Біологія. – Івано-Франківськ: Гостинець, 2007. – Вип. VII–VIII. – С. 265–267.
35. Лазаренко Л.М., Безруков В.Ф. Динамика хромосомной нестабильности батуна (*Allium fistulosum* L.): влияние температуры хранения семян // Цитология и генетика. – 2008. – № 5. – С. 54–60.
36. Bezrukov V.F., Lazarenko L.M. Environmental impact on age-related dynamics of karyotypical instability in plants // Mutation Research. – 2002. – 520, N 1/2. – P. 113–118.

GORODNA O.V., OLEFIRENKO V.V.

SSC "Institute of Biology" Taras Shevchenko National University of Kyiv,
Ukraine, 01601, Kyiv, Volodymyrska str., 64/13, e-mail: algora@i.ua

**IMPACT OF SHUNGITE ON STABILITY OF CHROMOSOMES
OF *ALLIUM FISTULOSUM* L.**

Aims. Shungite is a mineral, medicinal properties of which are widely advertised, but the real impact on the organisms leaves unknown. The aim of our study was to investigate the effect of shungite on the chromosomes stability of *Allium fistulosum*. **Methods.** To assess genomic instability the *Allium*-test was used. We had counted the frequency of chromosome damages at stages of anaphase and early telophase in the apical meristem of *Allium fistulosum*. **Results.** The frequency of aberrant anaphases in the experiment was significantly lower than in controls. Germination of seeds in the experiment and control differed insignificant. **Conclusions.** Thus, a natural mineral shungite changes the water quality after three days of incubation. A significant decrease of frequency of aberrant anaphases was found in the study of this water impact on chromosomes. We have concluded, that shungite-incubated water positively affects on stability of the genome.

Keywords: stability of chromosomes, chromosome aberrations, *Allium*-test, shungite.