

Проведен анализ современного состояния проблемы о загрязнении пищевого сырья и продуктов питания химическими контаминантами, являющимися потенциальными мутагенами и/или канцерогенами. Наибольшее внимание уделено таким генотоксикантам, как полициклические ароматические углеводороды, N-нитрозамины, гетероциклические амины, акриламид и некоторые тяжелые металлы, имеющие различные пути поступления и образования в пищевом сырье, продуктах питания, организме человека и животных.

**Ключевые слова:** пищевые контаминанты, мутагены, канцерогены, полициклические ароматические углеводороды, N-нитрозамины, нитраты, нитриты, гетероциклические амины, акриламид, тяжелые металлы.

#### Summary

**Tkachova D.L., Dugan A.M., Yalovenko E.I.** *Potential mutagenic and carcinogenic activity of food products.*

The modern state of the problem concerning food chemical contamination with potential mutagens and/or carcinogens has been reviewed. Much attention has been given to such genotoxicants as polycyclic aromatic hydrocarbons, N-nitrosamines, heterocyclic amines, acrylamid and some heavy metals. They have various ways of intake and formation in the food raw material, the food stuffs and the human and animal organisms.

**Key words:** food contaminants, mutagens, carcinogens, polycyclic aromatic hydrocarbons, N-nitrosamines, nitrate, nitrite, heterocyclic amines, acrylamid, hard metals.

УДК 575.224.036.53-002

## ПРОЛІФЕРАТИВНА АКТИВНІСТЬ КЛІТИН КОРЕНЕВОЇ МЕРИСТЕМИ ПІСЛЯ МУТАГЕННОГО ВПЛИВУ ТІОФОСФАМІДУ

**В.М. Шкарупа, І.Р. Барияляк**

*Науковий центр радіаційної медицини*

*АМН України (Київ)*

### Вступ

Дослідження впливу хімічних речовин з мутагенною активністю на клітинну проліферацію виконуються, як правило, паралельно основному дослідженню кластогенних ефектів мутагенів. При цьому дослідників цікавить головним чином ступінь кореляції частот цитогенетичних ефектів зі зміною клітинної проліферації [1]. Процеси залежності проліферативної активності та дезінтеграції пулів проліферуючих клітин від дози мутагенного впливу вивчені на сьогодні недостатньо [2].

**Метою** роботи було дослідити динаміку змін мітотичної активності клітин кореневої меристеми *Allium* *sepa* L. та особливостей розподілу клітин по фазах мітозу в залежності від концентрації тіофосфаміду.

### Матеріали і методи дослідження

В якості модельної системи використовували кореневу меристему проростків насіння *Allium* *sepa* L. (вік насіння на момент експерименту складав 9 місяців). Досліджували дію 12 концентрацій препарату ("Лэнс", РФ): 0,01; 0,02; 0,1; 0,2; 0,5; 1; 2; 5; 10; 20; 30; 40 мг/л. В якості контролю - дистильована вода. Після 72 годинної експозиції з мутагеном та фіксації матеріалу готували тимчасові препарати, пофарбовані ацетоорсеїном за загальноприйнятими методиками [3]. Проводили мікроскопічне вивчення меристематичної зони корінців. Для інтегральної оцінки впливу тіофосфаміду на клітинну проліферацію застосовували ряд цитогенетичних параметрів рослинної тест-системи: мітотичний індекс (MI), дезінтеграція пулів

проліферуючих клітин в морфогенезі кореня, затримка клітин на стадії профазі і метафазі мітозу [4]. Результати експериментальних даних обробляли за загальноприйнятими статистичними методиками [5].

#### Отримані результати та їх обговорення

Тіофосфамід є відомим цитостатиком, що і обумовило його використання в якості протипухлинного препарату [1]. Тому ми очікували значного впливу препарату на проліферативну активність клітин кореневої меристеми цибулі. Проте, аналіз значень МІ показав, що тіофосфамід виявляє значний вплив на цей параметр лише в діапазоні концентрацій, більших за 0,5 мг/л. Відмінності в мітотичній активності при дії мутагену у низьких концентраціях: 0,02 мг/л та 0,1 мг/л не були вірогідними. Хоча при дії найменшої концентрації мутагену (0,01 мг/л) МІ був вірогідно меншим, ніж в контролі. Значним виявився вплив тіофосфаміду на мітотичну активність клітин в концентраціях від 20 до 40 мг/л. Значення МІ склали від  $3,76 \pm 0,23$  до  $3,59 \pm 0,24$  відповідно.

Була виявлена вірогідна зворотня кореляція між концентрацією тіофосфаміду та мітотичним індексом ( $r = -0,92$ ,  $p < 0,0001$ ). На Рис.1 показано взаємозв'язок між концентрацією мутагену і МІ клітин *Allium* *cepa* L. Рівняння лінійної регресії має вид:  $y = 8,77 - 0,16x$  (1),

де  $x$  - концентрація тіофосфаміду,  $y$  - функція залежності МІ від концентрації мутагену. Вільний член в рівнянні вказує на очікуваний спонтанний рівень мітотичної активності.

Як видно з рівняння (1), очікуване значення МІ є меншим, ніж в контролі (8,77% та 10,19% відповідно). На нашу думку, це обумовлено двома причинами. По перше, як видно з Рис. 1, при діючих концентраціях мутагену, вищих за 0,5 мг/л, характер дозової залежності МІ від концентрації тіофосфаміду різко змінюється. Ефективність інгібування мітотичної активності при цьому значно зменшується, порівняно з такою в діапазоні діючих концентрацій від 0,1 мг/л до 0,5 мг/л. По друге, в діапазоні концентрацій від 20 мг/л до 40 мг/л відбувається сильне пригнічення мітотичної активності, значення

МІ при цьому залишаються на одному рівні і вірогідно не відрізняються ( $3,76 \pm 0,23\%$  -  $3,59 \pm 0,24$ ). Таким чином, залежність мітотичної активності від концентрації мутагену в дослідженому діапазоні не є лінійною, хоча задовільно описується лінійною регресією.

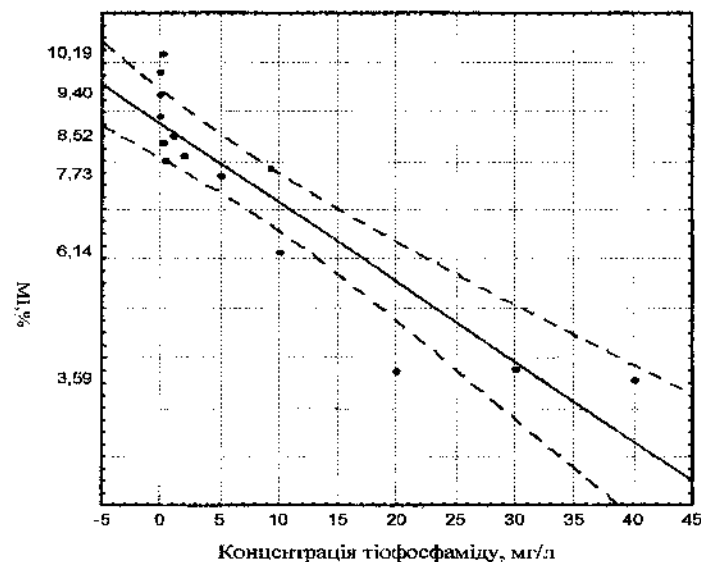


Рис.1. Кореляція між МІ та концентрацією тіофосфаміду.

Аналіз кількості клітин, що перебували в різних фазах мітозу показав, що при дії тіофосфаміду розподіл клітин відрізняється від контрольного в усьому діапазоні досліджених концентрацій (Рис. 2). При цьому спостерігається декілька тенденцій в зміні співвідношення фаз мітозу в залежності від концентрації мутагену. При дії тіофосфаміду в діапазоні концентрацій від 0,01 мг/л до 0,02 мг/л спостерігається збільшення пулу клітин на стадії профазі (до 46% порівняно з 41% в контролі) при зменшенні частки клітин в стадіях анафазі і телофазі. При наступному збільшенні концентрації мутагену профазний індекс вірогідно не змінюється. Лише починаючи з концентрації 1 мг/л відбувається його поступове збільшення

(за рахунок всіх інших фаз), яке досягає максимуму (64,5%) при найвищій концентрації мутагену - 40 мг/л. Метафазний індекс, починаючи з найменшої діючої концентрації тіофосфаміду, постійно збільшується і досягає максимального значення (26,76%) при концентрації 2 мг/л (в контролі - 15%).

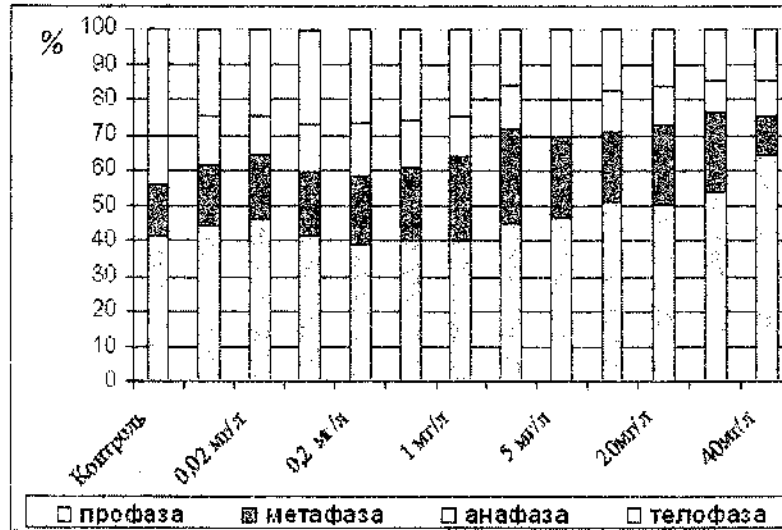


Рис.2. Розподіл клітин *Allium cepa* L. по фазах мітозу при 72-годинній експозиції з тіофосфамідом

Це свідчить про те, що дія мутагену в цьому діапазоні концентрацій призводить до значної затримки клітин на стадії метафази. Слід зазначити, що максимальна затримка клітин на стадії метафази відбувається в точці переходу S-подібності кривої доза-кластогенний ефект. Починаючи з концентрації 5 мг/л метафазний індекс зменшується на фоні значного збільшення частки клітин на стадії профази. Останнє вказує на переважання процесів порушення синтезу ДНК під впливом тіофосфаміду.

### Висновки

1. Отримані результати свідчать про дозозалежний характер зменшення проліферативної активності клітин кореневих меристем *Allium cepa* L. під впливом тіофосфаміду.

2. Залежність мітотичного індексу від концентрації тіофосфаміду має нелінійний характер в досліджуваному діапазоні концентрацій мутагену.

3. При дії тіофосфаміду спостерігається дезінтеграція пулів мітотичних клітин корневих меристем. В діапазоні концентрацій мутагену 0,01 мг/л - 2 мг/л спостерігається дозозалежне збільшення метафазного індексу, при дії вищих концентрацій мутагену переважає тенденція збільшення профазного індексу.

### Література

1. IARC Monographs on the Evaluation of carcinogenic risks to humans. Volume 50. Pharmaceutical drugs. - IAFROC. Lyon, 1990. - 415 p.
2. Стукалов С.В., Чеботарев А.Н. Проліферативная активность лимфоцитов в культуре после мутагенного воздействия тиофосфамида *in vitro* и *in vivo* // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1983. - № 12. - С.89-90.
3. Паушева З. П. Практикум по цитологии растений. - М.: Агропромиздат. - 1988. - 271 с.
4. Застосування рослинних тест-систем для оцінки комбінованої дії факторів різної природи. - 2006.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия. - М.: Высшая школа, 1980. - 293 с.

### Резюме

**Шкарупа В.М., Баріляк І.Р.** Проліферативна активність клітин кореневої меристеми після мутагенного впливу тіофосфаміду.

Досліджували вплив тіофосфаміду на проліферативну активність клітин кореневої меристеми *Allium cepa* L. після пролонгованої експозиції з мутагеном (72 год). Діапазон діючих концентрацій тіофосфаміду: 0,01-40 мг/л. Виявлена зворотня кореляція між мітотичним індексом та концентрацією мутагену. Залежність концентрація - мітотичний індекс, при цьому, має нелінійний характер. При дії тіофосфаміду спостерігається дезінтеграція пулів мітотичних клітин кореневої меристеми. В діапазоні концентрацій мутагену 0,01 мг/л - 2 мг/л спостерігається дозозалежне збільшення метафазного індексу, при дії вищих концентрацій мутагену переважає тенденція збільшення профазного індексу.

**Ключові слова:** проліферативна активність, клітини *Allium cepa* L., тіофосфамід.

#### Резюме

**Шкарупа В.М., Бариляк І.Р.** *Проліферативная активность клеток корневой меристемы после мутагенного влияния тиофосфамида.*

Исследовали влияние тиофосфамида на пролиферативную активность клеток корневой меристемы *Allium cepa* L. после пролонгированной экспозиции с мутагеном (72 ч.). Диапазон действующих концентраций тиофосфамида: 0,01- 40 мг/л. Выявлена обратная корреляция между митотическим индексом и концентрацией мутагена. Зависимость концентрация - митотический индекс, при этом, имеет нелинейный характер. При действии тиофосфамида наблюдается дезинтеграция пулов митотических клеток корневой меристемы. В диапазоне концентраций мутагена 0,01 мг/л - 2 мг/л наблюдается дозозависимое увеличение метафазного индекса, при действии более высоких концентраций мутагена преобладает тенденция увеличения профазного индекса.

**Ключевые слова:** пролиферативная активность, клетки *Allium cepa* L., тиофосфамид.

#### Summary

**Shkarupa V.M., Barilyak I.R.** *Proliferation activity of cells root meristem *Allium cepa* L. after the mutagen influence tiotepa.*

Investigated influence of tiotepa on proliferation activity of cells root meristem *Allium cepa* L. after the prolonged exposition with mutagens (72 h.). A range of operating concentration of tiotepa: 0,01-40 mg/l. Return correlation between mitotic index and concentration of mutagen is revealed. Dependence concentration - mitotic index, thus, has nonlinear character. At action of tiotepa decomposition of pools mitotic cells root meristem is observed. In a range of concentration мутагена 0,01 mg/l - 2 mg/l are observed dose response increase in a metaphase index, at action of higher mutagen concentration the tendency of increase in a prophase index prevails.

**Key words:** proliferation activity, cells *Allium cepa* L., tiotepa.

# ЕКОЛОГІЧНА І КЛІНІЧНА ІМУНОЛОГІЯ ТА ІМУНОРЕАБІЛІТАЦІЯ