

УДК. 575.224.

ВПЛИВ ЦИКЛОФОСФАМІДУ НА РІВЕНЬ АДАПТИВНИХ МОЖЛИВОСТЕЙ ТА МУТАГЕНЕЗУ У СТАТЕВИХ КЛІТИН ДРОЗОФІЛИ

Стрижельчик Н.Г.

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

Досліджували інформативність методу обліку домінантних летальних мутацій на постембріональних стадіях розвитку дрозофіли для тестування мутагенної активності ксенобіотиків. Дослідження проводили на лінії дрозофіли дикого типу Conton S. Встановлено, що циклофосфамід здатен достовірно підвищувати частоту постембріональної летальності у дрозофіли і впливати на показники плодючості за кількістю лялечок та імаго. Обробка циклофосфамідом двох поколінь дрозофіли призводила до більш значного підвищення частоти домінантних леталей.

Ключові слова: мутагенність, статеві клітини, домінантні летальні мутації, ксенобіотики.

Cyclophosphamide influence on the level of adaptability and mutagenesis in drosophila gametes. Strigelchuk N.G. – Validity of dominant lethal mutations registration at postembryonic stage of *Drosophila* development for testing of xenobiotic mutagenic effects has been studied. The Conton-S *Drosophila* line of wild type has been used in this investigation. It has shown that cyclophosphamide was capable to reliable increase the frequency of postembryonic lethal mutations in *Drosophila* and affect the fertility indices from pupa and imago quantities. Exposure to cyclophosphamide of two *Drosophila* generations resulted in more significant increase of dominant lethal frequency as well as to more decrease of *Drosophila* fertility indices.

Key words: mutagenesis, gametes, dominant lethal mutations, xenobiotic.

ВСТУП

Чутливість різних біологічних об'єктів до мутагенних/канцерогенних впливів визначається характером метаболічної активації, обумовленою видовими, тканинними та функціональними особливостями [1]. Звісно, що для проканцерогенів суттєві реакції біотрансформації, котрі призводять до метаболічної активації вихідних сполук, у результаті чого вони набувають генотоксичні властивості [2; 3; 4]. Важливою проблемою при вивченні генетичних наслідків хімічного мутагенезу є розробка інформативних систем тестування [1; 5].

У зв'язку з цим метою даної роботи є виявлення чутливості та інформативності методу обліку домінантних летальних мутацій у

дрозофіли на постембріональних стадіях розвитку для оцінки мутагенних властивостей ксенобіотиків.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Об'єктом досліджень є *Drosophila melanogaster* Mg. (*Diptera Drosophilidae*). Дослідження проводили на лінії дрозозфіли дикого типу Canton-S, яка характеризується гарною життєздатністю, високою плодючістю та добре вивченим рівнем мутабільності. Оцінювали вплив циклофосфаміду на генетичний апарат статевих клітин самців дрозозфіли за допомогою методу обліку домінантних летальних мутацій. Принцип методу полягає в порівнянні частоти утворення домінантних летальних мутацій у контролі й під впливом препаратів у однієї з ліній дрозозфіли [6]. Відомо, що домінантні летальні мутації реалізуються на різних стадіях онтогенезу дрозозфіли – на ембріональній (ембріональна летальність) та постембріональній (постембріональна летальність). Дослідження проводили на постембріональних стадіях онтогенезу (на стадії лялечок). Впливу препарату підлягали личинки дрозозфіли. Розчинником було живильне середовище. Дослідження проводили у декількох варіантах експериментів. У першому варіанті дослідів з метою оцінки можливості впливу циклофосфаміду на рівень мутагенезу у статевих клітинах самців культуру дрозозфіли розміщували на середовищі, яке містило препарат у концентрації 0,01 мг/мл. Далі з метою оцінки впливу препарату на декілька поколінь дрозозфіли нащадків самців знову піддавали впливу циклофосфаміду на стадії личинок. Таким чином впливу циклофосфаміду підлягали два покоління нащадків дрозозфіли. У другому варіанті дослідів концентрація препарату складала 0,02 мг/мл.

Оцінювали показники плодючості дрозозфіли за кількістю лялечок і імаго та рівень індукції домінантних летальних мутацій за показниками постембріональної летальності. Статистичний аналіз одержаних результатів проводили з використанням критерію χ^2 та критерію Стьюдента t [7; 8].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як видно з табл. 1-3 у контрольній групі в цій серії дослідів рівень плодючості дрозозфіли за кількістю лялечок складав $135,4 \pm 7,6$, за кількістю імаго – $129,0 \pm 8,7$. Рівень постембріональної летальності становив $4,7 \pm 0,7$ %.

При обробці двох поколінь дрозозфіли різними концентраціями циклофосфаміду (0,01 або 0,02 мг/мл) виявлено достовірне дозоза-

лежне підвищення частоти постембріональної летальності у порівнянні з контролем у 2,9 рази – $13,7 \pm 1,7$ та в 4,5 рази – $21,1 \pm 4,6$ відповідно ($\chi^2_1=30$; $\chi^2_2=71$; $P < 0,01$) (табл. 1).

Реалізація домінантних летальних мутацій на постембріональних стадіях розвитку дрозофіли в результаті призводила до достовірного зниження показників плодючості дрозофіли у порівнянні з контролем:

1. При обробці циклофосфамідом у концентрації 0,01 мг/мл за кількістю лялечок до 81,9 % ($111,0 \pm 7,4$), за кількістю імаго до 74,4 % ($96 \pm 6,5$) ($t_1=2,6$; $t_2=3,2$; $P < 0,05$) (табл. 2-3);

2. При обробці у концентрації 0,02 мг/мл за кількістю лялечок до 67,9 % ($92,0 \pm 11,4$), за кількістю імаго до 56,2 % ($72,5 \pm 15,6$) ($t_1=3,0$; $t_2=3,1$; $P < 0,05$) (табл. 2-3).

Таблиця 1

Вплив різних концентрацій циклофосфаміду на частоту постембріональних летальних мутацій у дрозофіли

Концентрація мг/мл	Проан. культури дрозофіли	Частота постембріонал. летальності, %, M±m	Значення	
			χ^2	P
Контроль				
–	6	$4,7 \pm 0,76$	–	–
Циклофосфамід				
0,01	5	$13,7 \pm 1,7$	30	<0,01
0,02	6	$21,1 \pm 4,6$	71	<0,01

Таблиця 2

Вплив різних концентрацій циклофосфаміду на показники плодючості дрозофіли за кількістю лялечок

Конц. препарату мг/мл	Проан. культур дроз.	Кількість лялечок на 1 культуру дрозофіли		Значення	
		кількість M±m	%	t	P
Контроль					
–	6	$135,4 \pm 7,6$	100	–	–
Циклофосфамід					
0,01	5	$111,0 \pm 7,4$	81,9	2,6	<0,5
–”–	6	$92,0 \pm 11,4$	67,9	3,0	<0,5

Таблиця 3

**Вплив різних концентрацій циклофосфаміду на показники
плодючості дрозофіли за кількістю імаго**

Конц. препарату мг/мл	Проан. культур дроз.	Кількість імаго на 1 культуру дрозофіли		Значення	
		кількість $M \pm m$	%	<i>T</i>	<i>P</i>
Контроль					
—	6	129 \pm 8,7	100	—	—
Циклофосфамід					
0,01	5	96 \pm 6,5	74,4	3,2	<0,05
0,02	6	72,5 \pm 15,6	56,2	3,1	<0,05

Одержані результати свідчать про небезпеку щодо застосування мутагенних лікарських препаратів кількома поколіннями нащадків, оскільки це може призвести до накопичення у статевих клітинах шкідливих мутацій, а також до зниження адаптивних можливостей як окремих індивідуумів, так і популяції в цілому.

ВИСНОВКИ

Проведені експериментальні дослідження дозволяють зробити наступні висновки:

1. Доведено чутливість та інформативність методу обліку домінантних летальних мутацій на постембріональних стадіях онтогенезу дрозофіли при дослідженні мутагенних властивостей ксенобіотиків.

2. За допомогою методу обліку домінантних летальних мутацій на постембріональних стадіях розвитку дрозофіли виявлено, що циклофосфамід у концентраціях 0,01 та 0,02 мг/мл (при впливі на два покоління нащадків дрозофіли) дозозалежним чином достовірно підвищує частоту постембріональної детальності у статевих клітинах дрозофіли.

2. При впливі циклофосфаміду на два покоління нащадків дрозофіли встановлено значне зниження адаптивних можливостей статевих клітин, що призводило до значного достовірного зниження показників плодючості дрозофіли за кількістю лялечок та імаго.

Література

1. Бочков Н.П., Шрам Р.Я., Кулешов Н.П. и др. Система оценки химических веществ на канцерогенность для человека: общие принципы, практические рекомендации и дальнейшие разработки // Генетика. — М., 1975. — Т. 11, № 10. — С. 150-172.

2. Абилов С.К. Основные классы химических соединений, мутагенное действие которых связано с активностью их метаболитов // Итоги науки и техники. Серия общая генетика. — М.: ВИНТИ, 1988. — Вып. 9. — 197 с.
3. Журков В.С., Сычев Л.П. Роль системы микросомальных монооксигеназ в модификации эффектов мутагенов // Вестник РАМН. — 1993. — № 1. — С. 41-46.
4. Лихович В.В., Цырлов И.Б. Индукция ферментов метаболизма ксенобиотиков. — Новосибирск: Наука, 1981. — 239 с.
5. Bridges V.A. Some general principles of mutagenicity screening and possible framework for testing procedure // Environ. Health Perspect. — 1973. — № 6. — P. 335-34.
6. Тихомирова М.М. Генетический анализ. — Л.: Наука, 1990. — 270 с.
7. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. — М.: Медицина, 1973. — С. 21-25, 53-56.
8. Лакин Г.Ф. Биометрия. — М.: Высшая школа, 1990. — 352 с.

Влияние циклофосфида на уровень адаптивных возможностей и мутагенез в половых клетках дрозофилы. Стрижельчик Н.Г. — Исследовали информативность метода учета доминантных летальных мутаций на постэмбриональных стадиях развития дрозофилы для тестирования мутагенной активности ксенобиотиков. Исследования проводили на линии дрозофилы дикого типа *Canton S*. Установлено, что исследуемый лекарственный препарат циклофосфамид способен достоверно повышать частоту постэмбриональных летальных мутаций у дрозофилы и влиять на показатели плодовитости дрозофилы по количеству куколок и имаго. Обработка циклофосфамидом двух поколений дрозофилы приводила к более значительному повышению частоты постэмбриональной летальности.

Ключевые слова: мутагенность, половые клетки, доминантные летальные мутации, ксенобиотики.