

ОЦІНКА МОДИФІКУЮЧОЇ АКТИВНОСТІ АМНІОЦЕНУ У КЛІТИНАХ КІСТКОВОГО МОЗКУ МИШЕЙ

Стрижельчик Н. Г.

*НДІ біології Харківського національного університету
імені В. Н. Каразіна*

Досліджували потенційну модифікуючу активність біологічно активної речовини амніоцену, одержану з амніотичної тканини людини, яка має протизапальні властивості. Тестування проводили на ссавцях у дослідах *in vivo*. Застосовували метод метафазного аналізу аберацій хромосом у клітинах кісткового мозку мишей. Встановлено, що при підшкірному введенні в 100-кратній добовій дозі препарат не проявляє комутагенної активності – не викликає достовірного підвищення частоти хромосомних аберацій, індукованих стандартним мутагеном діоксидином. Одержані результати обговорюються у відношенні можливого застосування амніоцену в медичній практиці.

Ключові слова: індукований мутагенез, мутагенна та модифікуюча активність, біологічно активні речовини, ссавці, хромосомні аберації.

Evaluation of amniocene modifying activity in mouse bone marrow cells. Stryzhelchik N.G. – Potential modifying effect of bioactive substance amniocene derived from human amnion tissue and possessing anti-inflammatory and healing effects has been investigated in mammals *in vivo*. Chromosomal aberrations in mouse bone marrow cells have been registered. It has been shown that subcutaneously the investigated substance in 100-fold therapeutic dose did not result the mutagenic rise of chromosomal aberrations frequency induced by the standard mutagen dioxidine. Obtained results are discussed in terms of possible usage of studied substances in medical practice.

Key words: induced mutagenesis, bioactive substances mutagenic and modifying effects, chromosomal aberrations, mammals.

ВСТУП

Особливе місце у життєдіяльності людини займають такі широко розповсюджені речовини, як лікарські препарати, кількість яких постійно зростає. Основною вимогою, що ставиться до лікарських препаратів, є їх безпечність. Проте багато досліджень на різних біологічних об'єктах показали наявність мутагенної та комутагенної активності у великої кількості з них [1, 2]. У зв'язку з цим, широке застосування знайшли лікарські препарати, які одержані з натуральної сировини. Ці препарати мають великі переваги у порівнянні з синте-

тичними лікарськими препаратами, бо володіють високою біологічною активністю та, як правило, не викликають побічних ефектів, а деякі з них проявляють антимуtagenні властивості. Проте відомо, що деякі речовини, які не є мутагенами, здатні посилювати, або прискорювати мутагенез, тобто проявляти комуtagenні властивості.

Метою роботи є вивчення за допомогою методу метафазного аналізу аберацій хромосом у клітинах кісткового мозку мишей потенційної модифікуючої активності біологічно активної речовини — амніоцену в умовах хімічно індукованого мутагенезу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Вивчали біологічно активну речовину — амніоцен, одержану з амніотичної тканини людини (в ДНЦЛЗ м. Харків), яка має проти-запальні властивості. Дослідження впливу амніоцену на генетичні структури соматичних клітин виконували за допомогою методу метафазного аналізу аберацій хромосом у клітинах кісткового мозку мишей [3]. Амніоцен вводили підшкірно самцям мишей віком 8-10 тижнів, масою 18-20 г одноразово у добовій дозі, збільшеній у 100 разів, яка складала 2,8 мл/кг, експозиція була 24 години. У якості індуктора мутагенезу використовували лікарський препарат — діоксидин, якій вводили внутрішньоочеревинно у дозі 200 мг/кг. За 2-2,5 години до евтаназії тваринам вводили внутрішньоочеревинно розчин колхіцину (0,025 % р-н по 0,01 мл на 1 г маси) для накопичення метафаз. Тварин умертвляли шляхом зміщення шийних хребців. Фіксатором слугувала суміш етилового спирту та льодяної оцтової кислоти (у співвідношенні 3:1). Препарати хромосом фарбували розчином азур-еозину [3]. Аналіз хромосомних препаратів проводили на мікроскопі МБІ-6. На кожну тварину аналізували 100 метафаз. Статистичний аналіз одержаних результатів проводили за допомогою критерію χ^2 та критерію Ст'юдента t [4].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як видно з таблиці 1, частота аберантних метафаз у контрольній групі тварин у цій серії дослідів була рівною — $0,83 \pm 0,32$ %. Спектр аберацій у контролі представлений поодинокими та парними фрагментами. Ахроматичні прогалини (геппи) складала — 1,2 %.

Цитогенетичний аналіз 500 метафазних пластин, одержаних при впливі препарату амніоцену показав, що препарат, який вивчається, не індукує цитогенетичний ефект в умовах спонтанного мутагенезу — частота аберантних метафаз практично не відрізнялась від

контролю та складала $0,80 \pm 0,26$ %. Статистичний аналіз одержаних результатів не виявив статично значущої різниці поміж дослідною та контрольною групами тварин ($\chi^2 = 0,004$; $p > 0,05$). Спектр аберацій, індукований амніоценом, складав лише поодинокі фрагменти.

У той же час, введення діоксидину призводило до статистично значущого підвищення частоти аберантних метафаз порівняно з контролем. Частота аберацій, індукованих діоксидином, була рівною $10,4 \pm 1,3$ % ($\chi^2 = 50,5$; $p < 0,01$).

Аналіз сумісної дії амніоцену зі стандартним мутагеном діоксидином показав, що введення амніоцену не чинить негативного впливу на цитогенетичний ефект діоксидину. Частота аберантних метафаз достовірно відрізнялась від контролю ($\chi^2 = 39,1$; $p < 0,01$), але не перевищувала рівень аберацій, індукований самим діоксидином і складала $8,6 \pm 0,9$ % ($\chi^2 = 0,93$; $p > 0,05$). Спектр аберацій, індукованих при сумісній дії амніоцену та діоксидину, був таким, як і при дії самого діоксидину: поодинокі та парні фрагменти, обміни та множинні аберації.

Таблиця 1

Вплив амніоцену на частоту аберацій хромосом, індукованих діоксидином у клітинах кісткового мозку мишей

Показники	Контроль	Препарати		
		А	Д	Д+А
Проаналізовано метафаз	600	500	500	500
Метафаз з абераціями	$0,83 \pm 0,32$	$0,80 \pm 0,26$	$10,4 \pm 1,3$	$8,6 \pm 0,9$
Аберацій на 100 клітин: поодиноких фрагментів	0,6	0,8	5,2	4,6
обмінів	0	0	0,2	0
парних фрагментів	0,2	0	0,2	0,4
множинних пошкоджень	0	0	4,8	3,6
метафаз з прогалинами	1,2	1,0	1,4	1,2

ВИСНОВКИ

Таким чином, у результаті проведених експериментальних досліджень було встановлено, що біологічно активна речовина амніоцен не проявляє мутагенної активності в умовах спонтанного мутагенезу та не має відповідно комутагенних властивостей – не підвищує цитогенетичний ефект, індукований стандартним мутагеном діоксидином.

Відсутність мутагенної та комутагенної активності вказує на те, що амніоцен є перспективним препаратом й може бути рекомендованим для упровадження у фармацевтичну промисловість та медичну практику.

Література

1. Бочков Н.П. Клиническая генетика. / Бочков Н.П./ – М.: Медицина, 1997. – 180 с.
2. Середенин С.Б. Фармакологическая защита генома. / Середенин С.Б., Дурнев А.Д./ – М., 1992. – 159 с.
3. Оцінка мутагенних властивостей нових лікарських засобів / [Бариляк І.Р., Неумержицька Л.В., Кривошеїн Ю.Г. та ін.] // Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації). – К.: ФК МОЗ України, 2000. – С. 166-186.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия. / Лакин Г.Ф./ – М., 1990. – 352 с.

Оценка модифицирующей активности амниоцена в клетках костного мозга мышей. Стрижельчик Н.Г. – Исследовали потенциальную модифицирующую активность биологически активного вещества амниоцена, полученного из амниотической ткани человека и обладающего противовоспалительными свойствами. Тестирование проводили на млекопитающих в опытах *in vivo*. Использовали метод метафазного анализа аберраций хромосом в клетках костного мозга мышей. Установлено, что при подкожном введении в 100-кратной суточной дозе исследуемый препарат не проявляет комутагенной активности – не вызывает достоверного повышения частоты хромосомных аберраций, индуцированных стандартным мутагеном диоксидином. Полученные результаты обсуждаются в отношении возможности использования амниоцена в медицинской практике.

Ключевые слова: индуцированный мутагенез, мутагенная и модифицирующая активность, биологически активные вещества, млекопитающие, хромосомные аберрации.