

Дудчик Н. В., Емельянова О. А.

ОЦЕНКА МУТАГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА ДИПЕПТИДА *L1* В ТЕСТЕ *SALMONELLA*/МИКРОСОМЫ

Научно-практический центр гигиены, г. Минск, Беларусь

В ходе своей жизнедеятельности человек ежедневно сталкивается с множеством химических соединений, широко используемых в медицине, пищевой, легкой промышленности и сельском хозяйстве. Некоторые из этих соединений обладают мутагенным действием, изменяя структурно-функциональную организацию генетического материала клетки [1, 2]. При этом происходит индукция мутаций в клетке, что может привести к образованию у человека злокачественных опухолей и возрастанию числа наследуемых генетических патологий. Ноотропные препараты, широко применяемые в медицине, улучшают умственную деятельность, повышают устойчивость мозга к различным повреждающим факторам [3–5]. Дипептид *L1* является новой фармацевтической композицией с ноотропным действием. Однако данные о мутагенной активности этой субстанции отсутствуют, что не дает возможности в полной мере оценить воздействие дипептида *L1* на организм человека.

Целью работы явилось изучение мутагенной активности дипептида *L1* методом оценки обратных мутаций на бактериях штаммов *Salmonella Typhimurium* TA 98, TA 100 (тест Эймса).

Материалы и методы

Объектом исследования служила субстанция дипептида *L1*, предоставленная государственным научным учреждением «Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси». Оценку мутагенной активности исследуемой субстанции осуществляли с помощью теста Эймса [6].

Тест Эймса проводили на чашках Петри. Образец исследовали в следующих концентрациях: 2,5 мг/мл, 0,25 мг/мл, 0,025 мг/мл, 0,0025 мг/мл, 0,00025 мг/мл. С целью выявления разных типов мутаций использовали тест-штаммы *S. Typhimurium TA 98*, который регистрирует мутации по типу сдвига рамки считывания, и *TA 100*, который регистрирует мутации по типу замены пар оснований. Наличие мутагенного эффекта учитывали по индукции обратных мутаций от ауксотрофности по гистидину к прототрофности у используемых штаммов. В эксперименте использовали полную микросомальную активирующую смесь, позволяющую регистрировать мутагенное действие препаратов.

В эксперименте к 2 мл полужидкого «верхнего» агара, расплавленного и остуженного до 45 °С, добавляли 0,1 мл бактериальной культуры (2×10^8 кл/мл), 0,1 мл исследуемого вещества в тестируемой концентрации, 0,1 мл суспензии бактерий и 0,5 мл микросомальной активирующей смеси. Быстро перемешивали содержимое пробирки и выливали его на слой селективного «нижнего» агара в чашки Петри. После застывания верхнего слоя агара чашки инкубировали в термостате при 37 °С в течение 48 ч. В качестве позитивного контроля, индуцирующего мутации у тест-штаммов, использовали 2-аминоантрацен (10 мкг/чашку). В качестве негативного контроля использовалась дистиллированная вода.

Результаты и обсуждение

По истечении времени инкубирования был проведен учет результатов путем подсчета числа колоний ревертантов, выросших на опытных и контрольных чашках, вычисления среднего значения и стандартного отклонения. Если среднее число колоний на опытных и контрольных чашках различалось более чем в 2,5 раза, делался вывод о наличии мутагенного эффекта у исследуемого вещества в тестируемой концентрации ($p < 0,05$). В противном случае отмечалось отсутствие мутагенного эффекта. Результаты определения мутагенной активности в тесте Эймса представлены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, препараты, использованные в качестве позитивных контролей, эффективно индуцировали мутации у всех исследуемых штаммов *S. Typhimurium*. Ответ штаммов на стандартные мутагены был в пределах обычных уровней. Количество ревертантов в контроле с растворителем (дистиллированная вода) находилось в пределах колебаний спонтанного уровня для штаммов *S. Typhimurium TA 98* и *TA 100*. Баланс

позитивного и негативного контролей составил 19,2 и 10,5 для *S. Typhimurium* TA 98 и TA 100 соответственно.

Таблица 1

Результаты определения мутагенной активности образца в тесте Эймса с полной метаболической активацией

Исследуемая концентрация	Среднее число колоний ревертантов на чашку	
	TA 98	TA 100
2,5 мг/мл	66,5 ± 3,6	94,2 ± 7,8
0,25 мг/мл	58,8 ± 4,2	77,2 ± 9,2
0,025 мг/мл	69,3 ± 9,1	80,5 ± 4,8
0,0025 мг/мл	55,7 ± 2,0	107,2 ± 9,6
0,00025 мг/мл	62,6 ± 3,3	88,1 ± 3,1
2-аминоантрацен 10 мкг/чашку	1113,6 ± 46,3	838,6 ± 47,8
Негативный контроль (дистиллированная вода)	58,0 ± 6,2	79,7 ± 6,8

Максимальное отношение числа ревертантов в тестируемых концентрациях исследуемого вещества по сравнению с негативным контролем составило 1,4.

Выявлено, что генотоксический потенциал дипептида *L1* не усиливается с увеличением его дозы. Также не было зафиксировано дозо-зависимых эффектов в ряду исследуемых концентраций дипептида *L1* в диапазоне 0,00025–2,5 мг/мл на тест-штаммах *S. Typhimurium* TA 98 и TA 100.

Выводы

На основании проведенных исследований было выявлено, что представленный образец дипептида *L1* в концентрациях 0,00025–2,5 мг/мл не обладал цитотоксическим эффектом в отношении тест-штаммов *Salmonella Typhimurium* TA 98 и TA 100 и не вызывал статистически достоверного увеличения числа колоний ревертантов по сравнению с негативным контролем ($p > 0,05$). Фактор увеличения количества ревертантов не превышал 1,4. В соответствии с результатами исследований установлено, что образец дипептида *L1* не обладал мутагенной активностью в отношении тест-штаммов *Salmonella Typhimurium* TA 98 и TA 100 в тесте на обратные мутации на бактериях с полной метаболической активацией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Snyder, R. D. A review of the genotoxicity of marketed pharmaceutical / R. D. Snyder, J. W. Green // Mutat. Res. 2001. Vol. 488(2). P. 151–169.
2. Genotoxic and carcinogenic effects of gastrointestinal drugs / G. Brambilla [et al.] // Mutagenesis. 2010. Vol. 25 (4). P. 315–326.
3. Ковалев, Г. В. Ноотропные средства / Г. В. Ковалев. Волгоград : Ниж.-Волж. кн. изд-во, 1990. 368 с.
4. Effectiveness of nootropic drugs with cholinergic activity in treatment of cognitive deficit : a review / L. Colucci [et al.] // Front. Syst. Neurosci. 2012. Vol. 4. P. 163–172.

5. *SPECT* monitoring of improved cerebral blood flow during long-term treatment of elderly patients with nootropic drugs / I. C. Dormehl [et al.] // Clin. Nucl. Med. 1999. Vol. 24, N 1. P. 29–34.

6. *Методические* указания по методам первичного выявления генетической активности загрязнителей среды с помощью бактериальных тест-систем. М. : ВИНТИ, 1985. 34 с.

Dudchik N. V., Emeljanova O. A.

Evaluation of mutagenic potential of dipeptide *L1* using the *Salmonella*/microsome test

Mutagenic potential of dipeptide *L1* has been tested for mutagenicity in the *Salmonella*/microsome test. It has been shown that dipeptide *L1* does not induce mutations in the genome of *Salmonella Typhimurium TA 98* and *TA 100* in tested concentrations. It was revealed that the genotoxic potential of dipeptide *L1* is not enhanced with increasing of its dose.