

УДК 615.015.4:[575.224.22: 591.324]

## ИЗУЧЕНИЕ МУТАГЕННОЙ АКТИВНОСТИ И СПОСОБНОСТИ ЦИТАФАТА ИНДУЦИРОВАТЬ ДОМИНАНТНЫЕ ЛЕТАЛЬНЫЕ МУТАЦИИ В ЗАРОДЫШЕВЫХ КЛЕТКАХ ЖИВОТНЫХ

*Г.Б. Дуанбекова, М.Ж. Карынбаева, М.Т. Бодеев, Б.А. Сарсекеева, А.Ж. Кулейменов*

Рассматривается мутагенное действие цитафата на половые клетки и клетки костного мозга в эксперименте. Установлено, что в терапевтических дозах цитафат не обладает мутагенным эффектом.

*Ключевые слова:* мутации; цитафат; митотический индекс; мутагенный эффект.

---

## STUDYING OF MUTAGEN ACTIVITY AND TSITAFAT'S ABILITY TO INDUCE PREPOTENT LETHAL MUTATIONS IN GERMINAL CAGES OF ANIMALS

*G.B. Duanbekova, M.Zh. Karynbayeva, M.T. Bodeyev, B.A. Sarsekeyeva, A.Zh. Kuleimenov*

This article discusses the impact of the new pharmacological compounds in the liver in experimental obstructive jaundice. It is established, the hepatoprotective activity of the compound in the experiment.

*Keywords:* amidophosphate cytosine; jaundice; experiment; structure; functions.

Доминантные летальные мутации – это генетические изменения, индуцированные в родительских зародышевых клетках и приводящие к гибели первого поколения потомков на эмбриональных стадиях развития. Большая часть доминантных летальных факторов представляет собой численные и структурные aberrации хромосом, часто они могут быть представлены генными мутациями. Мутагенный эффект проявляется в виде повышенной эмбриональной смертности. Если яйцеклетка оплодотворена сперматозоидом, несущим доминантную смерть, то смерть развивающегося эмбриона может произойти как до, так и после имплантации. Для оценки мутагенных свойств лекарственных препаратов учитывают и постимплантационную смерть [1–4].

**Материал и методы исследования.** Изучение способности цитафата индуцировать доминантные летальные мутации в зародышевых клетках проводили на мышах, а мутагенная активность изучалась на клетках костного мозга крыс.

Схемы этих экспериментов подробно изложены в методических рекомендациях по проверке мутагенных свойств у новых лекарственных препаратов [5] и предлагает введение испытываемого препарата самцам с последующим спариванием каждого из них с интактными самками.

В основе метода лежит регистрация видимых структурных нарушений хромосом на стадиях ран-

ней телофазы или поздней анафазы. У животных, убитых методом декапитации, извлекали бедренные кости, которые фиксировали при температуре 4 °С в течение 3–4 часов в смеси с ледяной уксусной кислотой в соотношении 3:1. После выдерживания в 96%-ном спирте в течение 30 минут кости помещали в 70 ° спирта на длительное хранение. Для анализа готовились давленые препараты клеток, которые окрашивались 1%-ным ацетокармином. Препараты анализировались под микроскопом – 90 × 8. Учитывались следующие типы нарушений хромосом: одиночные и парные фрагменты, хромосомные и хроматидные мосты. Отставания и слипания подсчитывали отдельно. Частоту хромосомных перестроек определяли в хорошо разошедшихся анафазах и ранних телофазах. От каждого животного просматривали 300 делящихся клеток [4–6].

Митотический индекс с регистрацией профаз, метафаз, анафаз и телофаз подсчитывали на 1000 клеток, делящихся и неделящихся, в разных частях препарата. Результаты обрабатывались статистически с помощью метода Стьюдента – Фишера в модификации Типпета [6].

Цитафат вводили мышам-самцам гибридов СВА × С57В1 (шестерым однократно, внутрибрюшинно по 0,5 мл в дозе 125 мг/кг, равной пятикратной терапевтической дозе – 25 мг/кг). В качестве растворителя и контроля использовали дистиллированную воду.

Таблица 1 – Результаты изучения способности цитафата индуцировать доминантные летальные мутации в зародышевых клетках мышей

Стадия сперматогенеза		Доза, мг/кг	Число анализируемых самок	Фертильность %	Постимплантационная гибель %	$\chi^2$
Зрелые спермии	Контр.	0	36	81,8	6,5	1,18
	Опытная	125	35	81,4	4,4	
Поздние сперматиды	Контр.	0	40	88,9	6,8	0,33
	Опытная	125	41	91,1	5,8	
Ранние сперматиды	Контр.	0	44	97,8	3,0	0,18
	Опытная	125	42	95,5	3,5	

Примечание. \* – критическое значение  $\chi^2$  при  $p < 0,01$  равно 6,63 [5].

Таблица 2 – Результаты цитогенетического анализа клеток костного мозга животных, подвергавшихся воздействию цитафата ( $M \pm m$ )

Сроки	Через 2 недели			Через 1 месяц			Восстановительный период		
	хромосомные aberrации	слипания	отставания	хромосомные aberrации	слипания	отставания	хромосомные aberrации	слипания	отставания
К	$2,7 \pm 0,3$	$2,8 \pm 0,3$	$0,3 \pm 0,2$	$1,7 \pm 0,5$	$2,3 \pm 0,5$	$0,2 \pm 0,1$	$2,3 \pm 0,4$	$2,2 \pm 0,4$	$0,20 \pm 0,10$
ТД**	-	-	-	$2,1 \pm 0,3$	$2,8 \pm 0,4$	$0,3 \pm 0,1$	-	-	-
5ТД**	$2,3 \pm 0,5$	$2,6 \pm 0,3$	$0,3 \pm 0,1$	$1,9 \pm 0,1$	$2,8 \pm 0,4$	$0,7 \pm 0,3$	$2,1 \pm 0,2$	$2,6 \pm 0,3$	$0,25 \pm 0,13$
10ТД**	$2,9 \pm 0,3$	-	$0,3 \pm 0,2$	$2,2 \pm 0,3$	$2,3 \pm 0,3$	$0,7 \pm 0,3$	$2,3 \pm 0,2$	$2,9 \pm 0,3$	$0,30 \pm 0,14$

Примечание. ( $0,05 < P < 0,02$ ). К – контроль, \*\*ТД – терапевтическая доза; \*\*5ТД – пятикратная доза; \*\*10ТД – десятикратная доза препарата.

Результаты эксперимента приведены в таблице 1.

Статистическая обработка полученных данных с помощью критерия  $\chi^2$  не показала достоверных различий в уровне постимплантационной смертности в опытных вариантах по сравнению с контрольными.

Изучение мутагенной активности цитафата проводилось с помощью метода цитогенетической активности клеток костного мозга крыс, подвергавшихся воздействию препарата на уровне терапевтической дозы и доз, превышающих терапевтическую в 5 и 10 раз.

Животные обследовались через 2 недели и через один месяц после начала эксперимента, а также через 2 недели в восстановительный период после окончания эксперимента.

Результаты представлены в таблицах 2 и 3.

Как следует из таблиц 1 и 2, цитафат в дозах, превышающих терапевтическую в 5 и 10 раз, не вызывал достоверное, по сравнению с контрольной группой, увеличение хромосомных aberrаций у животных, подвергавшихся воздействию препарата в течение месяца. В группе животных, подвер-

гавшихся воздействию препарата в дозе, равной пяти и десяти терапевтическим, наступало восстановление, и количество хромосомных aberrаций у опытных животных находилось на одном уровне с контролем.

Отсутствие достоверных различий у животных, получавших препарат на уровне одной терапевтической дозы через месяц от начала эксперимента, свидетельствует об отсутствии мутагенного эффекта препарата на данном уровне воздействия.

Митотический индекс у животных всех групп находился, примерно, на одном уровне с контролем и достоверно не отличался от контрольных величин (таблица 3).

Следует указать на наличие четкой дозовой зависимости эффекта увеличения хромосомных aberrаций при действии препарата в дозе, равной 10 терапевтическим дозам, степень достоверности была значительно выше ( $0,05 < P < 0,02$ ), чем в дозе, равной пяти терапевтическим дозам, где мутагенный эффект наблюдался на границе достоверности, т. е. при  $P = 0,05$ . Отсутствие эффекта на уровне терапевтической дозы свидетельствует о том, что уровень пятикратного превышения те-

Таблица 3 – Митотический индекс клеток костного мозга животных, получавших цитафат в течение 1 месяца

Серия	2 недели	1 месяц	Восстановительный период
К	1,9 ± 0,10*	1,7 ± 0,20*	1,8 ± 0,30*
ТД*	-	1,9 ± 0,30	-
5ТД**	2,0 ± 0,20**	1,9 ± 0,13**	2,1 ± 0,14**
10ТД***	2,0 ± 0,14***	2,0 ± 0,20***	2,3 ± 0,20***

Примечание. (0,05 < P < 0,02). К – контроль и \*ТД – терапевтическая доза; \*\*5ТД – пятикратная доза; \*\*\*10ТД – десятикратная доза.

рапевтической дозы можно считать пороговым. Наличие дозовой зависимости свидетельствует о критерии значимости эффекта, а значит о генетической опасности цитафата в дозах, значительно, превышающих терапевтическую.

Из вышеизложенного следует, что цитафат, с учетом влияния его на генетический аппарат клетки может применяться как лекарственный препарат только в пределах доз, не превышающих более чем в 5 раз терапевтическую. Также установлено, что цитафат не индуцирует образование доминантных летальных мутаций в зародышевых клетках мышей на стадии сперматогенеза.

#### Литература

1. Методические рекомендации по оценке мутагенных свойств фармакологических средств. М.: МЗРФ, РГЦЗЛ, Фармком. госк-т, 1994.
2. Рокицкий П.Ф. Введение в статистическую генетику / П.Ф. Рокицкий. Минск, 1978.
3. Maron D.M., Ames B.N. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test // *Mutat. Res.*, 1983, 113, № 3–4, P. 173–215.14.
4. Оценка мутагенности новых лекарственных средств: методические рекомендации. М., 1994. 20 с.
5. Ashby J. International Commission for protection against Environmental Mutagens and Carcinogens. Two million rodent carcinogens? The role of SAR and QSAR in their detection // *Mutation Research*, 1994. Feb 1. 305 (1). P. 3–12.
6. Klopman G., Rozenkranz H.S. International Commission for protection against Environmental Mutagens and Carcinogens. Approaches to SAR in carcinogenesis and mutagenesis. Prediction of carcinogenicity/mutagenicity using MUL TI-CASE // *Mutation Research*, 1994. Feb 1. 305 (1). P. 33–46.