

## ОЦІНКА ТОКСИЧНОСТІ ТА ГЕНОТОКСИЧНОСТІ МЕЛАНІНУ НА ТЕСТ-СИСТЕМІ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Меланіни – природні темні пігменти, які містяться в шкірі, волоссі, райдужній оболонці ока, тканинах, вовні та інших структурах різних організмів. Експериментальні роботи з вивчення природи меланінів і особливостей їх метаболізму виявили поліфункціональність цих сполук. Незважаючи на те, що хімічна будова природних меланінів до цих пір остаточно не з'ясована через їх надзвичайно складну полімерну будову та високе різноманіття, фармакологічні властивості останніх вивчалися досить інтенсивно. Особливості будови цих пігментів, які роблять їх схожими на молекулярні сита та іонообмінні смоли, їх висока електронно-акцепторна здатність, наявність стабільних вільних радикалів у високих концентраціях та яскраво виражені напівпровідникові властивості дозволяють успішно використовувати меланіни в медицині, фармакології та інших галузях. Показано, що завдяки стабільному вільнорадикальному стану і здатності до оберненого окислювально-відновного потенціалу меланіни забезпечують захист організму в екстремальних умовах, за яких в клітині генеруються активні вільні радикали, що потенційно здатні порушувати процеси її нормального функціонування [1–4].

Показано, що меланін, продуцентом якого є дріжджеподібні гриби *Nadsoniella nigra* (штам X1-M), які були висіяні з вертикальних скель острова Галіндез Аргентинського архіпелагу (Українська антарктична станція «Академік Вернадський»), має цитотоксичні, антистресові, дерматотропні, антиоксидантні та інші властивості [5]. Це дозволяє розглядати вказаний меланін як перспективну субстанцію для створення нових лікарських засобів. Певними обов'язковими етапами при створенні та реєстрації нових фармакологічних засобів є їх доклінічні дослідження, які включають вивчення токсичності та генотоксичності субстанції.

*Drosophila melanogaster* – класичний генетичний об'єкт, який широко використовується у

дослідженні токсичності та генотоксичності різних речовин [6].

Метою нашої роботи було вивчення токсичності та генотоксичності меланіну, продуцентом якого є дріжджеподібні гриби *Nadsoniella nigra* (штам X1-M).

### Матеріали і методи

Характеристика ліній, які використовувалися для тестування:

Лінія 1: *mei-9<sup>a</sup> mei-41<sup>D5</sup> / FM7c; mwh*. Гени *mei-9<sup>a</sup>* та *mei-41<sup>D5</sup>* розташовані в X-хромосомі, мутації в них призводять до дефектів в ексцезійній та постреплікативній репарації відповідно. Ген *mwh* міститься в третій хромосомі, мутації в ньому спричиняють формування множинних волосків у клітинах міжжилкового простору крила.

Лінія 2: *Oregon R(R)*. Лінія дикого типу, у якої відсутні порушення репарації ДНК та морфології крила.

Поживне середовище: до 4 мл стандартного поживного середовища [7] додавали 1 мл 0,0035% розчину меланіну. У контролі використовували стандартне поживне середовище, до якого додавали 1 мл дистильованої води без додавання меланіну [8].

Методи: для дослідження токсичності препарату меланіну визначали його вплив на виживаність, час розвитку та плодючість (кількість отриманих особин імаго в F<sub>1</sub>) мух, які виростили на середовищі з додаванням та без додавання меланіну. Виживаність оцінювали за кількістю мух, які не загинули на 10-й день після посадки на середовище з додаванням досліджуваної речовини.

Можливий генотоксичний ефект досліджували у тесті на репарацію ДНК (DNA reparation test) [8, 9]. Для цього схрещували віргінних самок лінії 1 з самцями лінії 2. Схрещування проводили в пробірках з дослідним середовищем. Отже, весь життєвий цикл отриманого в схрещуваннях потомства проходив на досліджуваному середовищі. У подальшому проводили аналіз F<sub>1</sub>,

розділяючи мух на такі класи: 1) самки, які мали червоні очі округлої форми або з проявом мутації *Bar* (зменшена кількість фасеток ока) (f(female)); 2) самці, які характеризуються порушенням системи репарації ДНК, а також мають жовті очі (m(male)1); 3) самці з непорушеною системою репарації, білі очі *Bar* (m2) [8].

Виживання кожного класу мух оцінювалося як відносне число мух у дослідній культурі до показників, отриманих у контрольній культурі. Досліджувана речовина оцінюється як така, якій притаманні мутагенні властивості (позитивні результати), коли відношення виживання особин вказаних класів m1/f і m1/m2 становить менше 0,1 і 1, відповідно.

### Результати та обговорення

У результаті аналізу на токсичність не ідентифіковано відповідних ефектів у досліджуваного препарату. Виживаність мух як на середовищі з додаванням меланіну, так і на контрольному середовищі становила 100%. Також не було відзначено затримок у часі розвитку мух у порівнянні з контролем. Що стосується такого показника, як плодючість, то він у середньому становив 28 особин на пробірку для досліду та 32 особини на пробірку для контролю, така різниця не є статистично достовірною. Отримані результати узгоджуються з даними літератури, за якими меланіни, отримані з інших джерел, не проявляють токсичних ефектів на організм гризунів [10].

В експериментах на генотоксичність не було отримано результатів, які могли би свідчити про мутагенність речовини, яка вивчалася (табл.).

При додаванні до середовища меланіну в середньому було отримано таку кількість особин у відповідних класах: f – 21,71, m1 – 6,57, m2 – 0,43. На контрольному середовищі середня кількість особин у фенотиповому класі становив

Таблиця

### Співвідношення фенотипових класів мух у експерименті на мутагенність

Варіанти досліду	Середня кількість особин			m1/f	m1/m2
	самки (f)	самці (m1)	самці (m2)		
Меланін	21,71	6,57	0,43	0,30	15,33
Контроль	29,67	7,67	3,67	0,26	2,09

Примітка. Результати вважаються позитивними, у випадку коли  $m1/f \leq 0,1$ , а  $m1/m2 \leq 1$ .

ла: f – 29,67, m1 – 7,67, m2 – 3,67. Отже, отримані співвідношення в досліді такі: m1/f – 0,30, m1/m2 – 15,33, а в контролі: m1/f – 0,26, m1/m2 – 2,09, що є більше ніж 0,1 та 1, відповідно, для обох варіантів досліду. Такі показники свідчать про відсутність мутагенного ефекту препарату меланіну, який отримали з дріжджеподібних грибів *Nadsoniella nigra* штаму X1-M у дрозофіли.

Отримані нами результати відповідають літературним даним, які свідчать, що препаратам типу меланіни загалом не притаманні мутагенні властивості [10].

### Висновки

Меланін, продуцентом якого є дріжджеподібні гриби *Nadsoniella nigra* штаму X1-M, які були висіяні з вертикальних скель острова Галіндез Аргентинського архіпелагу (Українська антарктична станція «Академік Вернадський»), не характеризувався токсичним та генотоксичним ефектами в експериментах на модельному об'єкті *Drosophila melanogaster*.

Автори висловлюють глибоку подяку за підтримку проведених досліджень Національному антарктичному науковому центру МОН України.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Островский М.А., Донцов А.Е. Физиологические функции меланина в организме // Физиология человека. – 1985. – 11, № 4. – С. 670.
2. Mason H.S. Structure of melanins // Pigment cell biology. – New York, 1959. – P. 563.
3. Тугай Т.И., Жданова Н.Н., Желтоножский В.А., Садовников Л.В., Садовникова М.Л., Бузарова Е.И. Влияние пролонгированного действия ионизирующего излучения на активность полифенолоксидазы и тирозиназы и на синтез меланина у *Neomus mus mus* // Радиоэкология. – 2006. – № 18. – С. 82–86.
4. Борщевская М.И., Васильева С.М. Развитие представлений о биохимии и фармакологии меланиновых пигментов // Вопросы медицинской химии. – 1999. – 45, вып. 1. – С. 13–24.
5. Slobodyanyuk N., Beregova T., Neporada K. Pancreatic Enzymes Activity under the Conditions of Acute Stress and Melanin Administration Depending on the Stress Resistance // Journal of Pharmacy and Pharmacology. – 2015. – 3, № 5. – P. 232–236.
6. Rand M., Montgomery S., Prince L., Vorobjikina D. Developmental toxicity Assays using the *Drosophila* model // Curr Protoc Toxicol. – № 59. – P. 1–27.
7. Ashburner M., Golic K., Hawley R. *Drosophila: A Laboratory Handbook*. 2nd ed. – New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2005.
8. Fujikawa K. Genotoxic potency in *Drosophila melanogaster* of selected aromatic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons as assayed in the DNA repair test // Mutation Research. – 1993. – № 290. – P. 175–182.
9. Furlanetto M., Sinigaglia M., do Amaral V., Dohl R., de Andrade H. Effect of Vanillin on Toxicant – Induced Lethality in the *Drosophila melanogaster* DNA Repair Test // Environmental and Molecular Mutagenesis. – 2007. – 48. – P. 67–70.
10. Моссэ И.Б., Жаворонков Л.П., Молофёй В.П., Измestьёва О.С., Посадска В.М., Измestьёв В.И. Разработка на основе меланина средства профилактики генетических и онтогенетических последствий облучения // Вестник ВОГиС. – 2005. – 9, № 4. – С. 533–527.

**PROTSENKO O.V., DUDKA O.A., KOZERETSKAYA I.A., FALALYEYeva T.M., BEREHOVA T.V., OSTAPCHENKO L.I.**

*Taras Shevchenko Kyiv National University,*

*Ukraine, 01033, Kyiv, Volodymyrska str., 64, e-mail: mizgirevka@rambler.ru*

### **TOXIC AND GENOTOXIC OF MELANIN IN *DROSOPHILA MELANOGASTER***

**Aim.** Melanin is a broad term for a group of natural pigments found in most organisms. Melanin neutralizes the effect of products of lipid peroxidation and takes part in neurotransmitter processes under numerous pathological processes damaging functional neuron structures. Experimental data cannot often account for the mechanisms of melanin action and therefore systematic analysis of all the data published on melanin pigments is necessary for possible employment of melanins for the pharmacological needs. In the present study, we examined the toxic and genotoxic effects of melanin in *Drosophila melanogaster*. **Methods.** To study the toxicity of melanin determined it was analyzed survival, development time and fecundity of flies. For study we used the strain *mei-9<sup>a</sup> mei-41<sup>D5</sup> / FM7c; mwh*, for the detection of repairable DNA damage in somatic cells, it was employed to determine the genotoxic effects of melanin. **Results.** Results obtained in the control and experiment with the addition of melanin was not significantly differ. **Conclusions.** The ability of melanin, obtained by yeast *Nadsoniella nigra* strain X1-M, cause toxic and genotoxic effects at the model organism *Drosophila melanogaster* was evaluated. As a result we demonstrated that the melanin, did not have the toxic or genotoxic effects on *D. melanogaster* in concentration 3.5 mg/100 ml.

**Keywords:** melanin, toxicity, genotoxicity, *Drosophila melanogaster*.