

В.М. ШКАРУПА¹, І.Р. БАРИЛЯК¹,
Л.В. НЕУМЕРЖИЦЬКА¹, І.Д. ГУМЕНЮК²

¹ Науковий центр радіаційної медицини АМН України, Київ
E-mail: lneum@bigmir.net

² Національний університет біоресурсів та природокористування
України, Київ

ГЕНОПРОТЕКТОРНИЙ ЕФЕКТ ГУМАТУ НАТРІЮ ЗА УМОВ ІНДУКОВАНОГО ОКСИДАНТНОГО СТРЕСУ



Показано, що гуMAT натрію в діапазоні діючих концентрацій 50–1000 мг/л зменшує рівень кластогенних ефектів, індукованих прооксидантним мутагеном діоксидином (20 мг/л). Найбільший генопротекторний ефект спостерігали при концентрації гуMATу натрію – 300 мг/л. Не виявлено прямої залежності доза–ефект при дії гуMATу натрію. Обговорюються можливі анти-мутагенні та десмутагенні механізми захисної дії гуMATу натрію.

© В.М. ШКАРУПА, І.Р. БАРИЛЯК, Л.В. НЕУМЕРЖИЦЬКА,
І.Д. ГУМЕНЮК, 2010

Вступ. Результати експериментальних та епідеміологічних спостережень вказують на те, що індуковані мутації призводять до збільшення спадкової, вродженої і онкологічної патології [1, 2]. Незважаючи на контроль за розповсюдженням мутагенів та заходи по обмеженню контакту з ними, уникнути мутагенного впливу на сучасну людину практично неможливо. Тому надзвичайно актуальним стає пошук шляхів профілактики індукованого мутагенезу на основі дослідження можливості його модифікації під впливом синтетичних і природних сполук.

Висока фізіологічна активність гумінових речовин обумовила зацікавленість в дослідженні їх можливих генопротекторних властивостей. Показана можливість зменшення під впливом гумінових сполук мутагенності радіаційного випромінювання, пестицидів, алкілюючих агентів, сумарної мутагенної активності забруднених ґрунтів [3–7]. В той же час існують дані про генотоксичність гуMATів, а також про активацію ними прооксидантних процесів. Хоча, враховуючи їх поліфенольну природу, логічним було б очікувати дію, подібну до інших фенольних антимутагенів, зокрема антиоксидантну [8].

Метою нашої роботи було дослідити вплив гуMATу натрію у високих концентраціях на частоту кластогенних ефектів, індукованих прооксидантним мутагеном діоксидином в клітинах апікальної меристеми *Allium cepa* L.

Матеріал і методи. Як тест-систему використовували клітини апікальної меристеми проростків насіння *Allium cepa* L. (вік насіння на момент експерименту становив 14 міс). В експерименті використовували розчини гуMATу натрію в концентраціях 50, 100, 300, 500, 1000 мг/л. Оксидантний стрес індукували за допомогою прооксидантного мутагену діоксидину в концентрації 20 мг/л. Фізіологічно активною концентрацією гуMATу натрію для рослин, при якій спостерігається активація ростових процесів та збільшення мітотичної активності, є 50 мг/л. Саме при цій концентрації в більшості робіт показані антимутагенні властивості препарату [3, 5–7], тому високі концентрації гуMATу натрію ми визначали як ті, що лежать в діапазоні, вищому за 50 мг/л. Вибір ефективної концентрації мутагену базувався на результатах дослідження мутагенності діоксидину в *Allium*-тесті [9]. Насіння пророщува-

ли в чашках Петрі на фільтрах, змочених розчинами препаратів, в контролі – дистильованою водою при температурі 25 °С впродовж 72 год. Корінці довжиною 4–9 мм поміщали у фіксатор Кларка, клітини кореневої меристеми аналізували анафазним методом на тимчасових препаратах, пофарбованих ацетоорсеїном [10]. Кластогенні ефекти оцінювали за частотою аберантних анафаз (ЧАА, %), враховували також мітотичний індекс (МІ, %). Ефективність дії гумату натрію оцінювали за редукційним фактором (РФ), який характеризує ступінь пригнічення хімічного мутагенезу під впливом модифікатора

$$\text{РФ} = \frac{M - (AM + M)}{M} \cdot 100 \%,$$

де М – частота аберантних ана-телофаз, індукованих мутагеном; АМ + М – частота аберантних анафаз при комбінованій дії мутагену і модифікатора.

Результати досліджень та їх обговорення. Результати експериментів наведені в таблиці. Як показали дослідження, під впливом гумату натрію в діапазоні концентрацій 50–1000 мг/л спостерігається статистично достовірне зменшення мутагенності діоксидину. Незважаючи на різницю концентрацій гумату у вибраному діапазоні в 20 разів, ефект зменшення мутагенності був майже на однаковому рівні: в 2,01–

2,76 разу, що вказує на відсутність прямої залежності доза–ефект у дослідженому діапазоні.

При дії діоксидину відбувається пригнічення мітотичної активності, яка відновлюється при дії гумату натрію майже до рівня контрольного. Лише при експозиції діоксидину з гуматом натрію у концентрації 1000 мг/л спостерігається перевищення значення контрольного МІ. Це свідчить про стимулюючий вплив гумату натрію на процеси клітинного поділу в клітинах *Allium cepa* L. за умов мітотоксичної дії діоксидину, хоча при цьому показники МІ не досягають рівня мітотичної активності при експозиції насіння тільки з гуматом натрію, який є вищим за контрольний.

Зменшення мутагенності діоксидину під впливом гумату натрію вказує на можливий антиоксидантний механізм захисної дії гумату. Хоча прямої дозової залежності не виявлено, РФ при концентрації гумату натрію 300 мг/л вірогідно більший, ніж при нижчих концентраціях. При концентраціях, вищих за 300 мг/л, РФ дещо зменшується, але є більшим, ніж при дії фізіологічно активної концентрації гумату (50 мг/л). Тому не виключено, що при цих високих концентраціях можливий і десмутагенний ефект гумату натрію за рахунок взаємодії молекул останнього з молекулами діоксидину, що вносить додаткову компоненту у захисний ефект. Враховуючи вищесказане, доцільно ви-

Вплив гумату натрію і діоксидину на цитогенетичні показники в клітинах кореневої меристеми проростків насіння *Allium cepa* L.

Діоксидин, мг/л	Гумат натрію, г/л	Проаналізовано ана-телофаз, n	ЧАА	МІ	РФ
			%		
0	0	1330	2,18 ± 0,40	9,51±0,78	–
0	50	1815	2,42 ± 0,36	11,94±1,21*	–
0	100	1157	2,07 ± 0,42	11,28±1,04	–
0	300	1758	2,62 ± 0,38	15,63±2,36*	–
0	500	1390	3,23±0,47	13,63±1,9*	–
0	1000	1641	2,81±0,41	12,13±0,97*	–
20	0	1166	22,21±1,22	7,35±0,92	–
20	50	1206	9,70±0,85**	8,94±0,77	56,33
20	100	1032	11,04±0,98**	8,83±0,98	50,29
20	300	1790	8,04±0,64**	9,53±1,10*	63,80
20	500	1312	9,14±0,80**	9,27±0,84*	58,85
20	1000	1110	8,11±0,82**	10,2±1,03*	63,49

*P < 0,05; ** P < 0,01.

значити виявлений ефект гумату натрію як генопротекторний.

Висновки. Показано, що гумат натрію в діапазоні концентрацій 50–1000 мг/л зменшує індуковану прооксидантом діоксидином мутагенність в клітинах апікальної меристеми *Allium sera* L. в 2,01–2,76 разу. Найбільший генопротекторний ефект спостерігається при концентрації 300 мг/л. На фоні мітотоксичної дії діоксидину гумат натрію у всіх досліджених концентраціях виявляє стимулюючий вплив на процеси клітинного поділу. Не виявлено прямої дозової залежності між концентрацією гумату натрію та його генопротекторним ефектом при індукованому діоксидином оксидантному стресі, що вказує на можливість антиоксидантного механізму захисної дії гумату. Статистично достовірне більше значення редукційного фактора при концентраціях 300 і 1000 мг/л, ніж при фізіологічно активній концентрації гумату натрію, може бути обумовлено наявністю також і десмутагенної компоненти його генопротекторного ефекту.

*V.M. Shkarupa, I.R. Barilyak,
L.V. Neumerzhitskaya, I.D. Gumenuk*

GENOPROTECTIVE EFFECT SODIUM HUMATE IN CONDITIONS INDUCED OXIDATIVE STRESS

It was shown that sodium humate in a range of concentration of 50–1000 mg/l reduces a level of clastogenic effects induced with dioxidin (20 mg/l), a prooxidant mutagen. The greatest effect was observed at concentration of 300 mg/l. Direct dose-effect dependence under the influence of sodium humate was not revealed. Possible antioxydative and desmutagenic mechanisms of sodium humate protective action are discussed.

*V.N. Shkarupa, I.P. Barilyak,
L.V. Neumerzhitskaya, I.D. Gumenuk*

ГЕНОПРОТЕКТОРНИЙ ЕФФЕКТ ГУМАТА НАТРИЯ В УСЛОВИЯХ ИНДУЦИРОВАННОГО ОКСИДАНТНОГО СТРЕССА

Показано, що гумат натрія в діапазоні концентрацій 50–1000 мг/л уменьшает уровень кластогенных эффектов, индуцированных прооксидантным мутагеном диоксидином (20 мг/л). Наибольший эффект

наблюдала при концентрации 300 мг/л. Не выявлено прямой зависимости доза–эффект при действии гумата натрия. Обсуждаются возможные антиоксидантные и десмутагенные механизмы защитного действия гумата натрия.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бочков Н.П., Чеботарев А.Н. Наследственность человека и мутагены внешней среды. – М.: Медицина, 1989. – 270 с.
2. Дурнев А.Д. Модификация мутационного процесса в клетках человека // Вестн. РАМН. – 2001. – № 10. – С. 70–76.
3. Горювая А.И., Орлов Д.С., Щербенко О.В. Гуминовые вещества. – Киев, 1995. – 303 с.
4. Горювая А.И., Павличенко А.В. Зменшення токсикомутагенної активності ґрунтів на території м. Жовті Води з використанням гумінових сполук // Радіобіологічні ефекти: ризики, мінімізація, прогноз : Матеріали Міжнар. конф. (22–24 бер. 2005 р.). – Київ, 2005. – С. 120–121.
5. Михайлов О.Ф., Корытова А.И. Защитное и антимутагенное действие на семена гороха гумата натрия и пенициллина // Гуминовые удобрения. Теория и практика их применения. – Днепропетровск, 1973. – 4. – С. 94–97.
6. Шкарупа В.Н., Баріляк І.Р., Неумержицька Л.В. Особенности участия гуминовых кислот в процессах антимутагенеза // Проблемы экологической та медицинской генетики і клінічної імунології : Зб. наук. пр. – Київ-Луганськ-Харків, 2001. – Вип. 5 (37). – С. 47–62.
7. Шкарупа В.М., Неумержицька Л.В., Баріляк І.Р. Вплив гумату натрію на рівень хромосомних пошкоджень, індукованих тіофосфамідом в клітинах кореневої меристеми *Allium sera* L. // Радіобіологічні ефекти: ризики, мінімізація, прогноз : Матеріали Міжнар. конф. (22–24 бер. 2005 р.). – Київ, 2005. – С. 38–39.
8. Дурнев А.Д., Середенин С.Б. Антиоксиданты как средства защиты генетического аппарата // Хим.-фарм. журн. – 1990. – 24, № 2. – С. 92–100.
9. Шкарупа В.М., Баріляк І.Р. Мутагенез, індукований діоксидином в *Allium*-тесті // Цитология и генетика. – 2006. – 40, № 5. – С. 31–36.
10. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. – М.: Агропромиздат, 1988. – 271 с.

Надійшла 26.11.08