



Цитогенетический анализ антимутагенного действия α -токоферола и глюкозы при индукции мутаций героином у лабораторных мышей

Н.А. Пирцхелани, А.Г. Пирцхелани, Г.Д. Капанадзе, Н.В. Мамаладзе

*Тбилисский государственный медицинский университет, Тбилиси, Республика Грузия
Научный центр биомедицинских технологий РАМН, Москва*

На лабораторных мышах изучено антимутагенное и антицитотоксическое действие глюкозы и α -токоферола при индукции мутаций наркотическим веществом (героин). В работе применены цитологические и генетические методы исследования.

Героин характеризуется мутагенным и цитотоксическим действием. Интраперитонеальное введение животным героина (терапевтическая доза) вызывает достоверное ($p < 0,001$) повышение количества структурных нарушений хромосом (единичные и парные фрагменты, лизис), геномных мутаций (триплоидия, тетраплоидия), патологических митозов (полая метафаза, К-митоз, слияние хромосом), центромерных ассоциаций хромосом и нарушение интерфазных ядер (полное ядро). Глюкоза, α -токоферол и комплекс глюкоза+ α -токоферол характеризуются выраженным антимутагенным и антицитотоксическим действием. Глюкоза в три раза, α -токоферол в четыре раза, а комплекс глюкоза+ α -токоферол 4,5 раза уменьшают частоту мутагенных и цитотоксических эффектов героина.

Ключевые слова: Героин, глюкоза, α -токоферол, митозы, хромосомы, мыши.

Массовое злоупотребление психоактивными веществами (ПАВ) приводит к увеличению числа случаев отравления, травматизма, асоциального поведения, преступлений, связанных с насилием, и т.д. Внутривенное употребление наркотиков способствует быстрому распространению вирусных инфекционных заболеваний, таких, как СПИД, гепатит В и С. Большинство больных опийной наркоманией, как правило, умирает еще в молодом возрасте [4].

Большинство вредных химических веществ вызывает повреждение генетического аппарата человека, что приводит впоследствии к возникновению наследственных болезней, врожденных аномалий, злокачественных образований, болезней сердечно-сосудистой, нервной, пищеварительной систем и т.д. [1, 8].

В наших работах [11] было показано, что введение лабораторным мышам наркотического вещества, героина, вызывает дос-

товерное увеличение ($p < 0,001$) хромосомных аномалий, патологических митозов и центромерных ассоциаций хромосом.

Исходя из вышесказанного, представляется необходимым проведение мероприятий, направленных на ослабление действия повреждающих агентов, с целью защиты генетического аппарата. Среди них особенно важно выделение и использование эффективных антимутагенов, которые максимально уменьшают повреждение генетического аппарата.

Целью настоящего исследования явилось изучение хромосомных нарушений при воздействии героина на клетки костного мозга лабораторных мышей и определение степени защитной роли α -токоферола и глюкозы.

Материалы и методы

Из наркотических веществ был использован героин, который вводили разнопо-

лым нелинейным мышам интраперитонеально в течении 10 дней (доза терапевтическая). В качестве антимуагенов были использованы α -токоферол (Е-витамин) и глюкоза (доза терапевтическая), которые вводили мышам подкожно.

Исследования проведены на 25 различных нелинейных мышах весом 20-25 г в 5 сериях: 1-я серия — цитогенетическое изучение героина; 2-я серия — цитогенетическое исследование клеток костного мозга белых мышей при комплексном введении героина и α -токоферола; 3-я серия — цитогенетическое исследование клеток при комбинированном воздействии героина и глюкозы; 4-я серия — цитогенетическое исследование мышей при комплексном введении героина, α -токоферола и глюкозы; 5-я серия — контрольная группа.

Хромосомные препараты из костного мозга животных готовились по методу Форда и Воллама [15]. Анализ препаратов проводился под световым микроскопом (МБИ6) при увеличении (10×90).

Учет структурных нарушений хромосом проводился по классификации Н. Бочкова [7], геномных мутаций — Н.Дубинина [8], патологических митозов — И.Алова [3].

Изучение нарушения интерфазных ядер проводилось по методу А. Пирцхелани [13].

Результаты исследования и обсуждение

Из проведенных экспериментов установлено, что героин характеризуется сильным мутагенным и цитотоксическим действием. Он с высокой частотой вызывает структурные нарушения хромосом (лизис, одиночные и множественные фрагменты), патологические митозы (к-метафаза, полая метафаза, слипание хромосом) и геномные мутации (триплоидия, тетраплоидия). Существуют единичные данные о том, что героин характеризуется мутагенным действием [16]. Известно, что генетический аппарат клетки, который подвергается тяжелым нарушениям (фрагментация, лизис,

к-метафаза, полая метафаза, полая интерфаза), в дальнейшем элиминируется [10, 12], т. е. имеет место цитотоксическое действие, что является показателем как мутагенного, так и общетоксического действия.

Из исследований, проведенных в 1986 году, известно, что у пациентов, которые употребляли героин и коноплю, наблюдалось повышение числа сестринских хроматидных обменов ($p < 0,002$). Таким образом, героин характеризуется высоким мутагенным и токсическим действием. Нашей целью было изучение таких веществ, которые максимально уменьшают нарушения генетического аппарата и токсическое воздействие героина. Нами были использованы α -токоферол и глюкоза. Из таблицы видно, что при отдельном влиянии героина на животных частота аберраций хромосом достигала $8,6 \pm 1,8\%$, геномных мутаций — $12,4\%$, а патологических митозов — $14,6\%$. Также были повышены центромерные ассоциации хромосом — $3,8\%$, а на фоне α -токоферола этот показатель соответственно уменьшился до $2,0, 4,0, 4,8$ и $1,2\%$, т. е. данный антимуаген уменьшает приблизительно в 4 раза мутагенное действие героина. В следующих сериях опытов нами было изучено влияние глюкозы в сочетании с героином. Оказалось, что каждодневное однократное введение героина в течение 10 дней с высокой частотой вызывало хромосомные аномалии (структурные нарушения хромосом, геномные мутации) в 21% случаев, также была повышена частота патологических митозов ($14,6\%$) и центромерные ассоциации хромосом ($3,8\%$). На фоне глюкозы эти показатели уменьшались в 3 раза (см. табл. 1). Данные, полученные нами, совпадают с данными других авторов, которые изучали антимуагенное влияние интерферона, комплексов витаминов при индукции мутаций канцерогенами,

* Мыши были получены из вивария Тбилисского государственного медицинского университета.

Таблица 1

Результаты цитогенетических исследований клеток костного мозга мышей при отдельном и комбинированном воздействии героина, α -токоферола и глюкозы

Варианты	Количество животных	Число исследованных метафаз	Структурные нарушения хромосом, %	Геномные мутации, %	Патологические метафазы, %	Центромерные ассоциации хромосом, %	Число нарушений интерфазных ядер, %
Героин	5	450	8,9 $\pm$ 1,8	12,4 $\pm$ 1,4	14,6 $\pm$ 1,6	3,8 $\pm$ 0,0	0,4 $\pm$ 0,2
Героин + α -токоферол	5	500	2,0 $\pm$ 0,7	3,5 $\pm$ 0,8	3,8 $\pm$ 0,6	0,5 $\pm$ 0,2	0,2 $\pm$ 0,02
Героин + глюкоза	5	500	2,8 $\pm$ 0,6	4,0 $\pm$ 0,8	4,8 $\pm$ 0,9	1,2 $\pm$ 0,3	0,1 $\pm$ 0,04
Героин + α -токоферол + глюкоза	5	450	2,0 $\pm$ 0,6	2,7 $\pm$ 0,7	3,2 $\pm$ 0,9	0,3 $\pm$ 0,9	0,01 $\pm$ 0,01
Контроль	5	500	1,2 $\pm$ 0,5	0,7 $\pm$ 0,05	3,7 $\pm$ 0,6	0,7 $\pm$ 0,5	0,01 $\pm$ 0,01

пестицидами и азотистых удобрений [6]. В последующей серии изучали антимутагенное и антигенотоксическое действие комплекса α -токоферола и глюкозы при индукции мутации героином. Оказалось, что цитогенетические нарушения, вызванные героином, при комплексном воздействии α -токоферола и глюкозы уменьшились в 4,5 раза.

Изученные нами ранее [14] канцерогены (бенз(а)пирен, основание Арнольда) и героин обладают резко выраженным токсическим действием: на связь между мутагенным, цитотоксическим и токсическим действием этих факторов указывает то, что увеличение дозы в определенном диапазоне влечет за собой увеличение токсического действия, при этом также увеличивается мутагенный и цитотоксический эффекты.

Как было показано, клетки с тяжелыми нарушениями впоследствии элиминируются. Вследствие повреждения митозного аппарата большинство изученных нами делющихся клеток были повреждены. С большой вероятностью можно допустить, что животные с указанными нарушениями могут оказаться нежизнеспособными, т. е. токсическое действие должно быть вызвано

увеличением мутагенного и цитотоксического эффектов этих соединений.

При изучении механизмов действия антимутагенов основную сложность представляет то, что они относятся к соединениям разных классов. Антимутагены обладают свойством включаться в разные биологические процессы.

Один из способов реализации протекторных свойств — это дисмутагенизация, т. е. инактивация вредного агента антимутагеном. Второй путь — это участие антимутагенов в активации репарационных процессов. Указанные механизмы изучены и доказаны экспериментально [2, 9].

Исходя из вышесказанного, представляется перспективным использование антимутагенов с лечебно-профилактической целью людьми, имеющими контакт с наркотическими веществами, а также больными, отравленными указанными веществами.

Выводы

1. Героин характеризуется мутагенным и цитотоксическим действием. Введение героина (в терапевтической дозе) вызывает у лабораторных мышей достоверное повышение частоты структурных

нарушений хромосом, геномных мутаций, патологических митозов, центромерных ассоциаций хромосом и нарушение интерфазных ядер ($p < 0,001$).

2. Глюкоза и α -токоферол обладают выраженными антимутагенными и антицитотоксическими свойствами. Глюкоза уменьшает количество нарушений, вызываемых героином, в среднем в 3 раза, а α -токоферол — в 4 раза.
3. Более высоким антимутагенным и антицитотоксическим действием обладают комбинации глюкоза + α -токоферол: в этом случае указанные эффекты уменьшаются в 4,5 раза.

Литература

1. Алакперов У.К. Тормоза для мутагенов. *Наука и жизнь*, 1986, №1 0, с. 56-60.
2. Алакперов У.К. Антимутагенез. М.: Наука, 1984, с. 13-17.
3. Алов И.А. Цитофизиология и патология митоза. М., 1972, 263 с.
4. Анохина И.П., Арзуманов Ю.Л., Веретинская А.Г. и др. Проблемы диагностики и лечения алкоголизма и наркоманий. *Сборник трудов НИИ Наркологии*. М.: Анахарсис, 2001, 112 с.
5. Барилля И.Р. Особенности эмбриотоксического действия вируса гриппа. *Архив анат. гистол. и эмбриол.*, 1986, № 2, с. 53-58.
6. Бичикашвили Н. Автореферат. 2003.
7. Бочков Н. П., Демин Ю.С., Лучник Н.В. Классификация и методы учета хромосомных аббераций в соматических клетках. *Генетика*, 1972, 8, № 6, с. 138-141.
8. Дубинин Н.П. В кн.: Общая генетика, М.: Наука, 1976, с. 145-160.
9. Засухина Г.Д. Репаративные механизмы клеток и проблемы окружающей среды. М.: Наука, 1979, 183 с.
10. Михайлова Г.Р., Горшункова Л.П. Цитологическое и кариологическое изучение культур клеток человека хрон. инф. вируса гриппа Ао/PR8. *Цитол. и генет.*, 1980, 10, 6, с. 582-534.
11. Пирцхелани Н.А., Абзанидзе Е.Б., Пирцхелани А.Г. Исследование хромосомных аномалий и патологических митозов при воздействии героина в эксперименте. *Сб. науч. трудов Тбил. гос. мед. университет, том XXXVII*, 2001, с. 369-371.
12. Пирцхелани А.Г. Докт. дисс. 1994.
13. Пирцхелани А.Г., Мамаладзе Н.В. Нарушение интерфазных ядер митозов и хромосом как показатель общетоксического и мутагенного действия факторов среды на организм. *Методические рекомендации*. Тбилиси, 1991, 1-10.
14. Пирцхелани А.Г., Мамаладзе Н.В., Ониани Д.А., Пирцхелани Н.А. Изучение антимутагенного и антицитотоксического действия глюкозы, полисахарида и «Центрум» в эксперименте. *Известия АН Грузии. Сер. «Биол. А»*, 2004, т. 30, № 2, с. 271-275.
15. Ford C., Wollam D. A study of the mitotic chromosomes of mice of the strong line. *Exp. Cell Res.*, 1963, 32, 320-326.

CYTOGENETIC ANALYSIS OF ANTIMUTAGENIC ACTION OF α -TOCOPHEROL AND GLUCOSE WHEN INDUCING MUTATIONS IN LABORATORY MICE BY HEROIN

N.Pirtshelani, A.Pirtshelani, G.Kapanadze, N.Mamaladze

Tbilisi Medical State University

Research Center for Biomedical Technology of RAMS, Moscow

The ten-day administration of narcotic substance heroin (therapeutic dose) induced high incidence of structural aberrations of the chromosomes (deletions, multiple fragments, lyses), genomic mutations (triploid, tetraploidy), chromosomal centromere associations and pathologic mitosis (hollow metaphase, K-mitosis, chromosomal adhesion), and deterioration of the interphase nuclei (hollow nucleus). Experiments showed that glucose and vitamin a-tocopherol exerted highly effective antimutagenic and anticytotoxic action. Glucose decreased incidence and mutagenic and cytotoxic effects of the heroin about 3 times while α -tocopherol 4 times and complex α -tocopherol+glucose 4,5 times.

Key words: heroin, glucose, a-tocopherol, mitosis, chromosome, mice.