

**ГЕНОЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ МАСЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ  
ПРИ РАДИАЦИОННОМ И ХИМИЧЕСКОМ МУТАГЕНЕЗЕ****А.И.АХУНД-ЗАДЕ, Р.А.КУЛИЕВ, Ш.Н.БАХЫШОВА***Бакинский Государственный Университет*

*В работе исследована возможность коррекции маслиновой кислотой мутационного процесса, индуцированного радиацией и N-нитрозо-N-метилмочевинной. Впервые установлена ее генозащитная активность в диапазоне доз 0,1-0,0001 мкг/мл. Показана специфичность действия маслиновой кислоты в зависимости от индуктора мутагенеза.*

В проблеме защиты генома и сохранения биоразнообразия в условиях загрязнения окружающей среды мутагенными и канцерогенными факторами антропогенного происхождения, особый интерес представляют биологически активные вещества из растительных источников, обладающих антимуtagenными свойствами (1).

Работы в этом направлении позволяют, с одной стороны, оценить роль различных метаболитов в регуляции генетической устойчивости живых организмов, а с другой – выделить перспективные виды растений, относящиеся к различным жизненным формам и являющиеся ценным источником получения фармакологических средств и пищевых добавок с генозащитными, антиоксидантными и геропротекторными свойствами.

Исходя из этого, приобретает особую актуальность изучение растительных экстрактов, компоненты которых, участвуя в коррекции мутационного процесса на различных его этапах, могут с достаточно высокой эффективностью поддерживать целостность генома.

В связи с указанным, целью настоящего исследования было изучение генозащитного действия маслиновой кислоты в широком диапазоне доз при радиационном и химическом мутагенезе.

***Материал и методы***

В качестве объекта исследования были использованы воздушно-сухие семена ячменя (*Hordeum sativum* L.), урожая 2003 г., полученные из Института генетических ресурсов НАНА.

Индукторами мутагенеза служили гамма-лучи и N-нитрозо-N-метилмочевина (НММ) – мутаген прямого типа комбинированного действия,

включающего процессы дезаминирования, алкилирования и карбамоилирования оснований.

Маслиновая кислота (МК), которая была использована в качестве модификатора мутационного процесса и потенциального антимутагена, получена из отходов производства оливкового масла доктором фармацевтических наук, профессором АМУ И.С.Мовсумовым по собственной специально разработанной методике (2). Испытываемый препарат применялся в диапазоне доз 0,1; 0,01; 0,001; 0,001 мкг/мл.

Гамма-облучение семян дозой 15Гр производилось на установке РХУНД-20000 с источником  $^{60}\text{Co}$  при мощности дозы 2,4 рад/сек. Время облучения 10,5 сек.

Облученные семена далее инкубировались в растворах масляной кислоты в указанных дозах в течение 18 час. Затем семена промывались и проращивались. Инкубация семян в растворах и проращивание проводилась в термостате при температуре 25<sup>0</sup>С.

В опытах с НММ семена в течение 5 час. обрабатывались 0,02%-ным раствором мутагена, далее промывались и инкубировались в течение 18 час. в растворах модификаторов, снова промывались и проращивались.

Проросшие во всех вариантах эксперимента корешки фиксировались в фиксаторе Карнуа и окрашивались кармином для последующего цитологического анализа.

При цитологическом анализе учитывались частота и типы структурных мутаций хромосом в ана-телофазных клетках в первых митозах меристемы корешков у проростков ячменя по стандартной методике.

Полученные данные были обработаны общепринятыми методами статистического анализа для больших выборок (3).

Антимутагенная эффективность (ФЭА- фактор эффективности антимутагенеза) масляной кислоты определялась по отношению разницы между индуцированным мутагенами и модифицированным масляной кислотой уровнями мутаций к первоначальному.

#### ***Результаты и обсуждение***

Результаты цитологического анализа влияния масляной кислоты на уровень индуцированных мутагенами аберраций хромосом приведены в таблице 1.

Из таблицы видно, что использованные в эксперименте дозы гамма-лучей и НММ оказались эквивалентными и повысили уровень мутаций в 9,4-9,7 раза по сравнению с контролем.

Маслиновая кислота во всех испытываемых дозах достоверно снизила индуцированную мутагенами частоту мутаций. ФЭА указанных доз по отношению к гамма-лучами колебался в пределах 0,46-0,56, т.е. их эффективность была почти одинаковой.

Иная картина наблюдается в экспериментах с НММ. Антимутагенная эффективность масляной кислоты в дозах 0,1 и 0,01 мкг/мл была практически одинаковой (ФЭА составил 0,59-0,52 соответственно). Доза 0,001 мкг/мл проявила слабый антимутагенный эффект, снизив уровень мутаций 1,28 раза. ФЭА этой дозы был равен 0,22.

Таблица 1

## Модификация масляной кислотой мутационного процесса, индуцированного гамма-лучами и НММ

Варианты опыта	Проанализировано анафаз	Анафазы с aberrациями		t <sub>d</sub>		ФЭА	Типы перестроек							
		n	% ± S%	к контролю	к мутагену		Хроматидные дицентрики		Хромосомные дицентрики		Одиночные фрагменты		Двойные фрагменты	
							n	%	n	%	n	%	n	%
Контроль	672	19	2,85 ± 0,65				9	47,4	-	-	5	26,3	5	26,3
γ-лучи	709	196	27,61 ± 1,68	13,52			52	27,3	13	6,4	86	43,6	45	22,7
γ-лучи +0,1М.К.	635	76	11,97 ± 1,29	6,3	7,2	0,56	17	22,4	1	1,3	40	52,6	18	23,7
γ-лучи +0,01М.К.	647	92	14,22 ± 1,37	9,1	6,2	0,49	25	27,2	3	3,3	53	57,6	11	11,9
γ-лучи +0,001М.К.	761	90	11,83 ± 1,17	6,7	7,4	0,56	28	31,2	2	2,2	39	43,3	21	2,3
γ-лучи +0,0001М.К.	501	73	14,50 ± 1,00	6,9	5,4	0,46	14	14,2	-	-	41	56,2	18	24,6
НММ	490	137	27,96 ± 2,02	11,8			75	54,7	10	7,3	39	28,5	13	9,5
НММ+0,1М.К.	424	49	11,56 ± 5,5	5,2	6,5	0,59	31	63,3	1	2,0	14	28,6	3	6,1
НММ+0,01М.К.	685	91	13,28 ± 1,29	7,3	6,2	0,52	45	49,5	9	9,8	24	26,4	13	14,3
НММ+0,001М.К.	452	99	21,90 ± 1,94	9,3	2,2	0,22	44	44,4	5	5,1	37	37,4	13	13,1
НММ+0,0001М.К.	527	39	7,40 ± 1,14	6,6	8,9	0,73	25	64,1	1	2,6	10	25,6	3	7,7

Распределение в природе терпеноидов и их производных

Таблица 2

Подкласс (n-число C <sub>5</sub> - звеньев)	Характерные углеводороды (C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> ) <sub>n</sub>	Окисленные представители	Распределение в природе
Изопрен (n=1)	В природе не встречается	C <sub>5</sub> -ОРР	Повсеместно
Терпены (n=2) (моно-терпены)	Мирцен (I) Лимонен	Гераниол Цитраль Ментол	Растения, насекомые
Сесквитерпены (n=3)	$\beta$ - Фарнезен (II)	Фарнезол Сантонин Сиренин Ювенильные гормоны Абсцизовая кислота	Растения, насекомые, моллюски, микроорганизмы
Дитерпены (n=4)	«C <sub>20</sub> -терпен» (III) Каурен	Фитол Гиббереллины Смоляные кислоты Стерины ( $\leq$ C <sub>30</sub> ) Сапогенины ( $\leq$ C <sub>30</sub> ) Стероиды Экдизоны Ксантофиллы -	Растения, насекомые, микроорганизмы
Тритерпены (n=6)	Сквален		Растения, микроорганизмы, растения
Тетратерпены (n=8)	Фитоин $\beta$ -каротин		
Политерпены (n> 500)	Каучук Гуттаперча		

Наибольшее антимуtagenное действие маслиновой кислоты наблюдалось при дозе 0,0001 мкг/мл. Уровень мутаций снизился в 3,8 раза и ФЭА был равен 0,73.

Таким образом, при НММ- индуцированном мутагенезе генозащитная активность маслиновой кислоты в разных дозах варьирует.

Результаты анализа спектра мутаций, приведенные в таблице 1 показывают, что в контроле разница между количеством фрагментов и дицентриков недостоверна (52,6 и 47,4% соответственно).

В варианте с гамма- облучением семян количество фрагментов вдвое превышает количество дицентриков (66,3 и 23,7% соответственно). В вариантах, где после облучения семян применялась маслиновая кислота, данная пропорция практически сохранялась. Лишь в варианте с дозой маслиновой кислоты 0,0001 мкг/мл количество фрагментов в 4 раза превышало уровень дицентриков.

В экспериментах с НММ во всех вариантах наблюдалось преобладание дицентриков над фрагментами. Существенных различий в спектрах мутаций, индуцированных НММ и модифицированных маслиновой кислотой, не наблюдалось.

Анализ соотношения дицентриков хромосомного и хроматидного типа показал, что в экспериментах с гамма- облучением во всех вариантах преобладали дицентрики хроматидного типа.

В экспериментах с НММ во всех вариантах основное место занимают хроматидные дицентрики. Отмечено лишь незначительное число дицентриков хромосомного типа.

Таким образом, анализ типа аберраций показал, что снижая уровень мутаций, индуцированных гамма-лучами и НММ, маслиновая кислота не вызвала существенных сдвигов в спектре аберраций, свойственном каждому типу мутагена.

Маслиновая кислота, генозащитные свойства которой впервые исследовались в настоящей работе, относится к пентациклическим тритерпеноидам  $\beta$  -амиринового ряда (2).

Терпеноиды – это природные соединения из группы липидов, образующиеся в живых организмах из мевалоновой кислоты (4). Все они – полимеры углеводорода изопрена. В зависимости от числа изопреновых группировок все терпены делятся на монотерпены (2 группировки), сесквитерпены (3), дитерпены (4), тритерпены (6) и тетратерпены (8).

Многие из терпеноидов, распространенных в природе, в том числе лимонен, сквален,  $\beta$ -каротин, ксантофиллы, абсцизовая кислота и др., обладают антимуtagenными свойствами и осуществляют свои генозащитные функции на разных стадиях мутационного процесса (5).

Впервые установленная в наших экспериментах антимуtagenная активность тритерпена маслиновой кислоты вполне объяснима ее биологической активностью, свойственной большинству липидов и обладающей

стимулирующим влиянием на обменные процессы и, в том числе на антиоксидантные и другие системы защиты генома (6).

По данным литературы, вещества, способные снижать частоту мутаций на 40-80% и сохраняющие свою активность при более чем 100-кратном изменении концентраций, относятся к антимутагенам со средней эффективностью и широким диапазоном активных доз (7).

В соответствии с предлагаемой классификацией к таким антимутагенам можно отнести и масляную кислоту.

Генозащитный эффект масляной кислоты по-разному проявился по отношению к эквивалентным дозам радиации и НММ.

В условиях мутагенеза, индуцируемого гамма-лучами, масляная кислота во всем диапазоне испытываемых доз проявила практически одинаковую антимутагенную активность средней силы.

В условиях НММ-индуцированного мутагенеза дозы 0,1 и 0,01 мкг/мл проявили среднюю антимутагенную активность, такую же, как и при действии радиации.

Доза 0,001 мкг/мл проявила слабое генозащитное действие. При наименьшей дозе 0,0001 мкг/мл наблюдается наибольший антимутагенный эффект - снижение уровня мутаций на 73%.

Такой эффект, связанный с чередованием активных и неактивных концентраций, был назван дизруптивным.

По данным литературы, аналогичный антимутагенный эффект был обнаружен у парааминобензойной кислоты (7) калиевой и литиевой соли фенозана (8).

Предполагается, что данное явление может быть связано со стимулирующим эффектом, который характерен для низких концентраций большинства веществ (9). Такие концентрации способны также вызвать адаптивный ответ клетки (10).

Анализ спектра мутаций показал, что масляная кислота не проявила специфичности в отношении типов аббераций, индуцируемых радиацией и НММ.

Можно предположить, что это свидетельствует о влиянии масляной кислоты на потенциальные и первичные повреждения до их реализации в истинные хромосомные перестройки.

Установленная в наших экспериментах специфичность и практически одинаковая антимутагенная активность масляной кислоты во всем диапазоне испытываемых доз и имеющиеся в литературе данные о положительном влиянии ее на обмен веществ, гипохолестеринемическую и гипогликемическую активность (6), позволяет прийти к заключению о том, что масляная кислота может представлять определенный интерес в создании фармакологических препаратов, обладающих разнообразным спектром биологического и, в том числе антимутагенного и антиканцерогенного действия. Использование масляной кислоты тем более перспек-

тивно, что ее можно получать из отходов производства оливкового масла и оливок.

### ВЫВОДЫ

1. Впервые установлена генозащитная активность маслиновой кислоты в условиях радиационного и НММ-индуцированного мутагенеза.

2. Результаты проведенных исследований позволяют отнести маслиновую кислоту к антимутагенам средней эффективности с широким диапазоном активных доз.

3. В условиях радиационного мутагенеза маслиновая кислота проявила почти одинаковый антимутагенный эффект во всех испытываемых дозах в диапазоне 0,1-0,0001 мкг/мл; при НММ-индуцированном мутагенезе наблюдался дизруптивный эффект- чередование активных (0,1; 0,01; 0,0004 мкг/мл) доз с неактивной (0,001 мкг/мл).

4. В спектре аберраций, индуцируемых радиацией и НММ, испытываемый препарат существенных изменений не вызвал.

*Выражаем свою искреннюю благодарность доктору фармацевтических наук, профессору АМУ Мовсумову И.С. любезно предоставившему нам для исследований препарат маслиновой кислоты.*

### ЛИТЕРАТУРА

1. Алекперов У.К. Антимутагенез. 50 лет исследований. Сб. «Проблемы защиты генома», Баку, 2002, стр. 3-9.
2. Мовсумов И.С., Алиев А.М. Олеаноловая и маслиновая кислоты *Olea-europea* L. Химия природ.соед. Ташкент, 1985, 1, стр. 125-126.
3. Лакин Г.Ф. Биометрия. М. Высшая школа, 1990, 351 с.
4. Основы биохимии (под ред. Акисимова). М. Высшая школа, 1986, с. 420-441.
5. Алиев А.А., Абилов З.К. Молекулярные механизмы защиты генома. Баку, «Элм», 1999, с.1-258.
6. Мовсумов И.С., Манафов М.И., Алиев А.М. Получение маслиновой кислоты и изучение ее влияния на обменные процессы. Фармация, 1990, 1, с.54-58.
7. Семенов В.В., Студенцова И.А. Количественные и качественные оценки эффективности антимутагенов в эксперименте. 1993, 1, стр. 16-20.
8. Бабаев М.Ш., Зейналов А.Г., Серебряный А.М. и др. Контроль за спонтанным и индуцированным типами мутирования хромосом растений биоантиоксидантами. Совр.проблемы теории химич. мутагенеза, Таллинн, 1987, стр.3-10.
9. Рапопорт И.А., Шигаева М.Х., Ахматуллина Н.Б. Химический мутагенез. Алма-Ата, Наука, 1980, с.315.
10. Серебряный А.М., Зоз Н.Н. Стимулированная репопуляция как основа феноменов антимутагенеза и адаптивного ответа у растений. Генетика, 2002, и.38, №3, стр.340-346.

**RADİASIYA VƏ KİMYƏVİ MUTAGENEZ ŞƏRAİTİNDƏ ZEYTUN  
TURŞUSUNUN GENMÜHAFİZƏDİCİ TƏSİRİ**

**A.İ.AXUNDZADƏ, R.Ə.QULİYEV, Ş.N.BAXIŞOVA**

**XÜLASƏ**

İlk dəfə olaraq zeytun turşusunun antimutagen effekti radiasion və N-nitroso-N-metil sidik cövhəri (NMSC) ilə induksiya edilmiş mutageniz şəraitində müəyyən olunmuşdur. Öyrənilən preparat orta effektiv və geniş diapazonlu aktiv dozalı antimutagenlərə aiddir. Zeytun turşusu mutagenizindən induktorundan asılı olaraq müxtəlif xarakterli antimutagen təsirlər təzahür etdirir. Radiasion mutageniz şəraitində zeytun turşusu bütün sınaq dozalarında (0,1-0,0001mq/ml) eyni fasiləsiz antimutagen effekti verir. NMSC ilə induksiya edilmiş mutagenizdə zeytun turşusu dizruptiv effekt göstərir.

**THE GENPROTECTIVE ACTION OF OLEA ACID  
IN THE RADIATION AND CHEMICAL MUTAGENESIS**

**A.I.AKHUNDZADE, R.A.GULIYEV, Sh.N.BAKHISHEVA**

**SUMMARY**

For the first time the antimutagenetic activity of olea acid in condition of radiation and N-nitroso-N-methylurea (NMU) induced mutagenesis were determined. Studied preparation is concerning to antimutagens of medium efficacy with wide diapason of active dose (0,1-0,0001 mg/ml). Olive acid have showed difference at character its antimutagenic influence depending on inductor of the mutagenesis. In condition of the radiation mutagenesis olive acid have showed nearly equal continuous antimutagenic efficacy in all under test doses. Under NMM-induced mutagenesis olive acid has showed disruptive efficacy.