

С.Э. Огурцова, к.б.н., В.Д. Трусова, к.б.н.

## МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ $\beta$ -НАФТОФЛАВОНА НА МУТАГЕННУЮ АКТИВНОСТЬ ЦИКЛОФОСФАМИДА, МИТОМИЦИНА С И ДИАЗИКВОНА В КЛЕТКАХ КОСТНОГО МОЗГА МЫШЕЙ C57BL/6J

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, г. Минск

Одной из задач, стоящей перед современной генетической токсикологией, является выявление путей модификации метаболизма ксенобиотиков, имеющее принципиальное значение для разработки способов защиты наследственных структур от повреждающего действия чужеродных веществ. Модификаторы (индукторы) метаболизма ксенобиотиков могут находиться в окружающей среде и хронически поступать в организм с пищей, водой и при дыхании, тем самым изменяя активность ферментов, вовлеченных в процессы биотрансформации чужеродных соединений. В дальнейшем это ведет к изменению профиля мутагенных метаболитов ксенобиотиков и в конечном итоге - к повышению токсического действия ксенобиотиков или к усилению процессов детоксикации. Поэтому представляет интерес оценка мутагенного воздействия на организм таких химиотерапевтических препаратов, как циклофосфамид, митомицин С и диазиквон (AZQ), в условиях метаболической активации индуктором  $\beta$ -нафтофавоном, повышающим активность ферментов 1 и 2 фазы биотрансформации ксенобиотиков [1,2]. Все исследуемые препараты используют в химиотерапии опухолей [3 - 5]. Циклофосфамид - мутаген, относящийся к группе моноалкилирующих агентов. По своим химическим свойствам он относится к группе фосфоорганических соединений [6]. Митомицин С и диазиквон относятся к хинонсодержащим препаратам и оказывают цито-

токсическое действие только после биоредуктивной активации, которая приводит к образованию реактивных метаболитов, повреждающих молекулу ДНК [7].

**Материалы и методы исследования.** Эксперимент выполнен на половозрелых самцах мышей линии C57BL/6J с массой тела 20-25 г. В качестве индуктора промутагенов использовали  $\beta$ -нафтофлавон. Индуктор растворяли в кукурузном масле и вводили внутривентриально в дозе 40 мг/кг в течение 3-х дней ежедневно. Через 1 сут после последней инъекции  $\beta$ -нафтофлавона внутривентриально вводили циклофосфамид (20 мг/кг), митомицин С (3,5 мг/кг) и диазиквон (1 мг/кг). Непосредственно перед введением промутагены растворяли в изотоническом растворе натрия хлорида. Мутагенный эффект определяли путем учета аберраций хромосом в клетках костного мозга.

Изучение модифицирующего действия  $\beta$ -нафтофлавона на мутагенный эффект промутагенов проводили через 18 часов. Эта точка была выбрана нами на основании данных предыдущих исследований, показавших, что максимальный выход аберрантных клеток наблюдался через 18 ч после введения одного промутагена [8].

Цитогенетические препараты костного мозга готовили согласно общепринятой методике [9] с предварительным введением колхицина, гипотонической обработкой KCL (0,56%), фиксацией в смеси метанола и уксусной кислоты (3:1). Статисти-

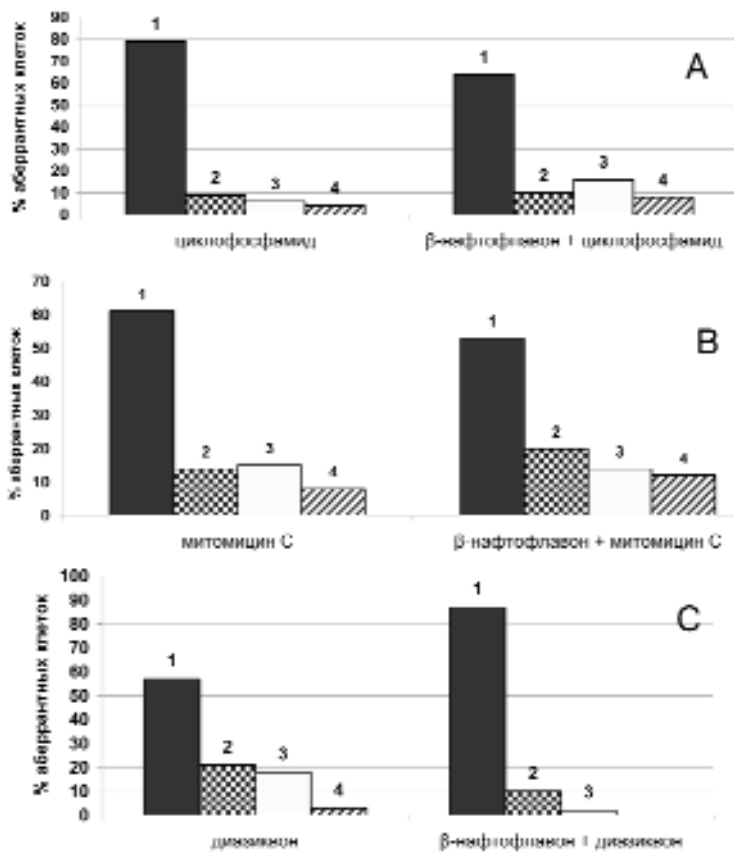
ческую обработку проводили с применением стандартных методов [10].

### Результаты и их обсуждение.

При исследовании влияния индукции ферментов метаболизма ксенобиотиков на цитогенетический эффект циклофосфамида, митомицина С и диазиквона учитывали вклад самого индуктора в выход аберраций хромосом. Для этого наряду с мышами, которым вводили только масло (контроль), исследовали животных, которым вводили  $\beta$ -нафтофлавон. В представленных в таблице данных видно, что 3-кратное введение  $\beta$ -нафтофлавона не вызвало статистически значимого увеличения частоты аберрантных клеток ( $1.73 \pm 0.34$ ) по сравнению с контролем ( $0.86 \pm 0.39$ ). Поэтому при исследовании модифицирующего действия  $\beta$ -нафтофлавона на мутагенный эффект исследуемых веществ вкладом индуктора в частоту аберраций можно пренебречь.

Полученные результаты (таблица) свидетельствуют, что предварительное введение  $\beta$ -нафтофлавона привело к достоверному увеличению мутагенного эффекта циклофосфамида. Доказательством этого является повышение уровня аберраций хромосом с  $11.71 \pm 1.27\%$  до  $19.20 \pm 2.50\%$  у мышей, которым до введения промутагена вводили индуктор  $\beta$ -нафтофлавон. При этом возросла и нагруженность поврежденных клеток аберрациями за счет количества клеток с двумя, тремя и более аберрациями (рисунок, А). Как следствие выросло и среднее число аберраций на исследованную клетку с 0.19 до 1.54, а также и среднее число аберраций на аберрантную клетку с 1.58 до 2.37 (таблица). Аналогичная картина наблюдалась и при введении митомицина С на фоне индукции ферментов  $\beta$ -нафтофлавоном. Введение индуктора увеличило процент аберрантных клеток с  $16.88 \pm 1.33\%$  до  $24.67 \pm 1.76\%$ . Рост частоты аберрантных клеток в варианте с  $\beta$ -нафтофлавоном сопровождался нагруженностью клеток аберрациями (рисунок В).

Предварительное введение  $\beta$ -нафтофлавона привело к уменьшению процента аберрантных клеток после обработки диазиквонем с  $32.36 \pm 1.41\%$  до  $11.72 \pm 0.96\%$  ( $P < 0.001$ ). Показано (таблица), что снижение частоты аберрантных клеток в варианте с индуктором сопровождалось сни-



**Рисунок.** Нагруженность aberrациями хромосом клеток костного мозга мышей линии C57BL/6J после введения промутагенов в условиях предварительного введения  $\beta$ -нафтофлавона.  
 1 - с одной aberrацией, 2 - с двумя aberrациями, 3 - с 3-10 aberrациями, 4 - с множественными aberrациями  
 А - циклофосфамид, Б - митоминин С, С - диазиквон

жением среднего числа aberrаций на исследованную клетку с 0.64 до 0.14, т.е. в 4 раза. Уменьшение выхода aberrантных клеток сопровождается уменьшением нагруженности клеток aberrациями. Удельный вес клеток с двумя aberrациями (рисунок, С) снизился с 21% до 10%, уменьшился также и удельный вес клеток с 3-10 aberrациями с 18% до 2%, соответственно вырос удельный вес клеток с одной aberrацией - с 57% до 87%. Это не согласуется с данными, где  $\beta$ -нафтофлавон приводил к увеличению мутагенного эффекта ряда других хинонов. Известно, что ведение  $\beta$ -нафтофлавона меняет соотношения ферментов в клетке, а поскольку разные ферменты обладают тканеспецифичностью и сайтспецифичностью в пределах клетки, то мутагенный эффект исследуемых промутагенов, а также спектр мутаций в разных тканях зависят от тонкого баланса ферментов. Возможно, что введение индуктора повышает активность таких ферментов, что и вызывает изменение биологических эффектов диазиквона путем превращения их в малотоксичные или менее реактивные продукты. Не исключено, что ведение  $\beta$ -нафтофлавона привело к повышению активности ферментов, метаболизирующих диазиквон по пути образования высоко реактив-

Таблица

**Частота aberrантных клеток в костном мозге мышей линии C57BL/6J после введения промутагенов в условиях индукции ферментов метаболизма ксенобиотиков**

Вариант воздействия	Число проанализированных клеток	Aberrантные клетки		Среднее число aberrаций на клетку	
		Количество	%	aberrантную	исследованную
Контроль (масло)	700	6	0.86±0.39	1.00	0.01
$\beta$ -нафтофлавон	1500	26	1.73±0.34	1.00	1.02
Циклофосфамид	623	73	11.71±1.28	1.58	0.19
Циклофосфамид + $\beta$ -NF	250	48	19.20±2.50	2.37	1.54
Митоминин С	800	135	16.88±1.33	2.42	0.41
Митоминин С + $\beta$ -NF	600	148	24.67±1.76	2.74	0.68
Диазиквон	1100	356	32.36±1.41	2.02	0.64
Диазиквон + $\beta$ -NF	1100	264	11.72±0.96	1.19	0.14

ных мутагенных метаболитов и элиминацией большого количества клеток.

Таким образом, выявлено, что

все три исследуемые промутагена неодинаково реагируют на предварительное введение индуктора. Введение  $\beta$ -нафтофлавона привело

к увеличению мутагенного действия циклофосфамида и митомидина С, но снизило мутагенный эффект диазиквона.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *McKillop D.* Mutagenicity, carcinogenicity and toxicity of  $\beta$ -naphthoflavone, as potent inducer of P448 // *Biochem. Pharmacol.* — 1991. — Vol.41. — P. 1-7.
2. *Talalay P.* Chemoprotection against cancer by induction of phase 2 enzymes // *Biofactors.* — 2000. — Vol.12. — P.5-11.
3. *Gibson N.W., Philips R.M., Ross D.* Mitomycin C // *Cancer Chemoter. Biol. Res. Modif.* — 1994. — Vol.15. — P. 51-57.
4. *Taylor S.A.* New agent in the treatment of primary brain tumors // *J. Neurooncol.* — 1994. — Vol.20. — P.141-153.
5. *Sladek N.E.* // *Anticancer Drugs: reactive metabolism and Drug Interaction / Ed. G.Powis.* — New York, 1992. — P.79-156.
6. *Maccubbin A.E., Caballs L., Riordan J.M.* A cyclophosphamide/DNA phosphoester adduct formed in vitro and in vivo. // *Cancer Res.* — 1991. — Vol.51. — P. 886-892.
7. *Rooseboom M., Commandeur J.N., Vermeulen N.P.* Enzyme-catalyzed activation of anticancer prodrugs // *Pharmacol. Rev.* — 2004. — Vol.56. — P. 53-102.
8. *Огурцова С.Э.* Динамика индукции цитогенетических повреждений в костном мозге мышей митомидином С. // *Весті НАН Беларусі.* - 2003. — №3. — С.54-56.
9. *Preston R.J., Dean B.J., Galloway S.* Mammalian in vivo cytogenetic assays analysis of chromosome aberrations in bone marrow cells. // *Mutat. Res.* - 1987. — Vol.189. — P.157-165.
10. *Sokal R.R., Rohlf F.J.* *Biometry*, 3<sup>rd</sup> ed. — N.Y.-W.H.: Freeman and Company, 1995. — 888 p.

*С.Е. Огурцова., В.Д. Трусова*

#### **МОДИФІКУЮЧА ДІЯ $\beta$ -НАФТОФЛАВОНУ НА МУТАГЕННУ АКТИВНІСТЬ ЦИКЛОФОСФАМІДУ, МІТОМІЦИНУ С ТА ДІАЗІКВОНУ У КЛІТИНАХ КІСТКОВОГО МОЗКУ МИШЕЙ C57BL/6J**

Попереднє введення індуктора метаболізму ксенобіотиків  $\beta$ -нафтофлавоноу призвело до збільшення мутагенного ефекту циклофосфаміду та митоміцину С, але знизило мутагенний ефект діазіквону у клітинах кісткового мозку мишей C57BL/6J

*S.E.Ogurtsova, V.D.Trusova*

#### **MODIFYING ACTION OF $\beta$ -NAFTHOFLAVONE ON THE MUTAGENIC ACTIVITY OF CYCLOPHOSPHAMIDE, MITOMYCIN C AND DIAZIQONE IN BONE MARROW CELLS OF MICE C57BL/6J**

Preliminary administration of xenobiotic metabolism inducer  $\beta$ -naphthoflavone has resulted in increasing mutagenic effect of cyclophosphamide and mitomycin C, but decrease mutagenic effect of diaziquone in bone marrow cells of mice C57BL/6J.