



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **95487**

(13) **U**

(51) МПК

G01N 33/554 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2014 07610**

(22) Дата подання заявки: **07.07.2014**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **25.12.2014**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **25.12.2014, Бюл.№ 24**

(72) Винахідник(и):

**Стрижельчик Ніна Георгіївна (UA),
Яковлева Лариса Василівна (UA)**

(73) Власник(и):

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ,
вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002 (UA)**

(54) СПОСІБ ЗНИЖЕННЯ МУТАГЕННОСТІ КСЕНОБІОТИКІВ У ЕУКАРІОТІВ

(57) Реферат:

Спосіб зниження мутагенності ксенобіотиків у еукаріотів, шляхом обробки еукаріотів антимуtagenним чинником. Як антимуtagen використовують вплив червоного лазерного випромінювання з довжиною хвилі 655 нм щільністю потужності 2 мВт/см².

UA 95487 U

Корисна модель належить до галузі фармакологічної генетики, а саме індукованого мутагенезу і може бути використана, з одного боку, для зниження негативного впливу мутагенних/канцерогенних ксенобіотиків (лікарських препаратів, харчових добавок, факторів оточуючого середовища) на геном еукаріотів, з іншого боку, для пошуку та дослідження нових чинників здатних знижувати тиск генотоксикантів на геном.

Найближчим аналогом до корисної моделі є спосіб "фармакологічного захисту генома". Спосіб полягає у використанні для зниження негативної дії на геном еукаріотів речовин, які мають антимутагенні властивості [1-2]. У наш час виявлено, що деякі речовини спроможні запобігати взаємодії генотоксичних ксенобіотиків з молекулами-мішенями (ДНК) і, таким чином, впливати на процеси становлення мутацій. Багатьма працями різних авторів доведена здатність антимутагенів достовірно знижувати мутагенний ефект генотоксикантів у соматичних та статевих клітинах еукаріотів [3-4].

Для здійснення способу еукаріотам крім мутагену вводять антимутаген у результаті відбувається достовірне зниження мутагенного ефекту. Антимутагенні властивості різноманітних речовин їх класифікація та можливі механізми дії представлені у роботах А.Д. Дурнева и С.Б. Середина [1-2]. Основним механізмом зниження мутагенного ефекту ксенобіотиків є антиоксидантна дія.

Недоліком аналога є те, що в основному усі антимутагени проявляють антимутагентну активність лише у певних дозах. Наприклад, не викликає сумнівів здатність вітаміну С інгібувати пошкоджуючу дію хімічних мутагенів. Роль вітаміну С, як антиоксиданта пов'язана з його ферментативною захисною участю у антирадикальному клітинному ланцюгові. Проте визначено, що у мілімолярних концентраціях вітамін С проявляє не захисну, а пошкоджуючу ДНК дію. [3-6]. Основним механізмом дії таких антимутагенів є їх антиоксидантна активність. В той же час, здатність антиоксидантів змінювати свій ефект на протилежний (прооксидантний) робить спосіб "фармакологічного захисту генома" ненадійним.

Звісно, що деякі лікарські препарати і багато харчових добавок мають антимутагенні властивості. Слід урахувати, що у побуті може відбуватися накопичення доз різних антиоксидантів і, таким чином, зміна їх ефекту на протилежний. Окрім того, багато речовин, у тому числі й деякі антимутагени, іноді здатні збільшувати ефекти самих мутагенів, тобто відігравати роль комутагенів/коканцерогенів [4].

В основу корисної моделі поставлено задача створення нового способу зниження мутагенності ксенобіотиків у еукаріотів, у якому за рахунок розробки нової сукупності ознак були б значно підвищені: надійність, достовірність, економічність, і експресність способу.

Поставлена задача вирішується таким чином, що у спосіб в умовах хімічно індукованого мутагенезу, шляхом обробки еукаріотів антимутагенним чинником, згідно з корисною моделлю, зниження мутагенного ефекту відбувається у результаті використання фізичних факторів - впливу червоного лазерного випромінювання з довжиною хвилі 655 нм, щільністю потужності 2 мВт/см².

Корисна модель здійснюють шляхом принципово нового підходу, який полягає у зниженні мутагенної дії ксенобіотиків у результаті впливу не хімічних, а фізичних факторів. Практично завдяки новому способу відбувається не "фармакологічний захист генома", а "фото-захисту" генома,

Такий підхід відкидає необхідність застосування ненадійних хімічних антимутагенів і, таким чином, робить новий спосіб більш надійним у досягненні позитивного ефекту. Крім того лазерне випромінювання (одна лазерна установка) може використовуватися дуже багато разів у той час, як наявність вартісних антимутагенів необхідно постійно поповнювати. Тобто новий спосіб є більш економічним.

Корисна модель дозволяє підвищити надійність зниження мутагенного ефекту ксенобіотиків, а також економічність, достовірність та експресність способу.

Спосіб "фото-захисту" генома служить вирішенню проблеми профілактики індукованого мутагенезу, а саме запобігання негативного впливу мутагенів/канцерогенів різної природи на геном еукаріотів.

Корисна модель пояснюється прикладами.

Приклад 1.

Як індуктор мутагенезу використовують лікарський препарат діоксидин. Для зниження мутагенного ефекту застосовували лазерне випромінювання з довжиною хвилі 655 нм, щільністю потужності 2 мВт/см².

Дослідження проводили на *Drosophila melanogaster* лінії дикого типу Canton-S. Культуру дрозофіли (по 30 пар) розміщували на поживному середовищі, яке містило мутаген діоксидин. Одержані кладки яєць обробляли лазерним випромінюванням. Вирощені з таких оброблених

кладок дорослі самці схрещувались з інтакними віргінними самками цієї ж лінії. Захисну дію лазерного випромінювання оцінювали у першому поколінні нащадків (F_1) за частотою індукованих домінантних летальних мутацій у статевих клітинах дрозофіли. Статистичну обробку результатів виконували за допомогою критерію χ^2 [5]. Одержані результати

представлені у таблиці 1.

У контролі частота домінантних летальних мутацій складала $6,3 \pm 0,90$ %. За умов впливу окремо діоксидину встановлено статистично значуще підвищення (у 2,6 рази) частоти домінантних летальних мутацій порівняно з контролем, яка складала $16,7 \pm 1,7$ % ($\chi^2=10,5$; $p<0,05$).

Проте внаслідок сумісної дії діоксидин+лазерне випромінювання не визначено достовірного підвищення частоти домінантних летальних мутацій у порівнянні з контролем. Частота домінантних летальних мутацій при цьому варіанті дорівнювала $5,5 \pm 0,88$ % ($\chi^2=0,24$; $p>0,05$).

Таблиця 1

Вплив лазерного випромінювання з довжиною хвилі 655 нм щільністю потужності 2 мВт/см² на частоту домінантних летальних мутацій, індукованих діоксидином у статевих клітинах *Drosophila melanogaster*

К-ція (%), Потужність мВт/см ²	Проаналіз. культур дрозофіли	Частота ДЛМ*, % M±m	Значення	
			χ^2	p
Контроль				
-	10	$6,3 \pm 0,90$	-	-
Діоксидин				
0,6	10	$16,7 \pm 1,7$	10,5	<0,01
Діоксидин+лазерне випромінювання				
0,6 % + 2 мВт/см ²	10	$5,5 \pm 0,88$	0,24	>0,05

Примітка.

*ДЛМ - домінантні летальні мутації

Порівняльний статистичний аналіз частоти домінантних летальних мутацій, що одержані за умов впливу лише самого діоксидину та сумісному впливі діоксидин+лазерне випромінювання виявив достовірну різницю. Лазерне випромінювання достовірно знижувало частоту домінантних летальних мутацій, індукованих діоксидином. У цьому варіанті дослідів частота домінантних летальних мутацій була статистично значуще нижча ніж при дії лише самого діоксидину у 3 рази ($\chi^2=17,5$; $p<0,01$).

Приклад 2.

Як індуктор мутагенезу використовують лікарський препарат циклофосфамід. Для зниження мутагенного ефекту застосовували лазерне випромінювання з довжиною хвилі 655 нм, щільністю потужності 2 мВт/см².

Дослідження проводили на *Drosophila melanogaster* лінії дикого типу Canton-S. Культуру дрозофіли (по 30 пар) розміщували на поживному середовищі, яке містило мутаген циклофосфамід. Одержані кладки яєць обробляли лазерним випромінюванням. Вирощені з таких оброблених кладок дорослі самці схрещувались з інтакними віргінними самками цієї ж лінії. Захисну дію лазерного випромінювання оцінювали у першому поколінні нащадків (F_1) за частотою індукованих домінантних летальних мутацій у статевих клітинах дрозофіли. Статистичну обробку результатів виконували за допомогою критерію χ^2 [5]. Одержані результати представлені у таблиці 1.

У контролі частота домінантних летальних мутацій складала $6,1 \pm 0,8$ %. За умов впливу окремо циклофосфаміду встановлено статистично значуще підвищення частоти домінантних летальних мутацій порівняно з контролем, яка складала $10,2 \pm 1,6$ % ($\chi^2=7,6$; $p<0,05$).

Проте внаслідок сумісної дії циклофосфамід+лазерне випромінювання не визначено достовірного підвищення частоти домінантних летальних мутацій у порівнянні з контролем. Частота домінантних летальних мутацій при цьому варіанті дорівнювала $4,0 \pm 0,6$ % ($\chi^2=3,5$; $p>0,05$).

Таблиця 2

Вплив лазерного випромінювання з довжиною хвилі 655 нм
щільністю потужності 2 мВт/см² на частоту домінантних летальних мутацій,
індукованих циклофосфамідом у статевих клітинах *Drosophila melanogaster*

К-ція (%), Потужність мВт/см ²	Проаналіз. культур дрозофіли	Частота ДЛМ*, % M±m	Значення	
			χ ²	p
Контроль				
-	10	6,1±0,8	-	-
Циклофосфамід				
0,6	10	10,2±1,6	7,6	<0,01
Циклофосфамід + лазерне випромінювання				
0.02 % +2 мВт/см ²	10	4,0±0.6	3.5	>0.05

Примітка.

*ДЛМ - домінантні летальні мутації

Порівняльний статистичний аналіз частоти домінантних летальних мутацій, що одержані за умов впливу лише самого циклофосфаміду та сумісному впливі циклофосфамід+лазерне випромінювання виявив достовірну різницю. Лазерне випромінювання достовірно знижувало частоту домінантних летальних мутацій, індукованих циклофосфамідом. У цьому варіанті дослідів частота домінантних летальних мутацій була статистично значуще нижча ніж при дії лише самого циклофосфаміду у 2,5 рази (χ²=39,1; p<0,01).

Отже, за допомогою корисної моделі, внаслідок використання лазерного випромінювання з довжиною хвилі 655 нм, щільністю потужності 2 мВт/см² відбувалось статистично значуще зниження мутагенного ефекту, індукованого у статевих клітинах дрозоділі мутагенними лікарськими препаратами діоксидином та циклофосфамідом.

Джерело інформації:

1. Середенін С.Б., Дурнев А.Д. Фармакологическая защита генома / Середенін С.Б. Дурнев А.Д. - М.: Медицина, 1992. - 159 с.
2. Дурнев А.Д., Середенін С.Б. Мутагены - скрининг и фармакологическая профилактика воздействия / Дурнев А.Д., Середенін С.Б. - М.: Медицина, 1998. - 327 с.
3. Худолей В.В. Худолей В.В. Модификаторы мутагенеза и антимутагенеза / Худолей В.В. // Вестник РАМН. - 1993. - № 1. - С. 24-32.
4. Дурнев А.Д., Середенін С.Б. Модификация мутагенного процесса в клетках человека / Дурнев А.Д. // Вестник РАМН. - 2001. - № 10. - С. 70-76.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия. - М., 1990. - С. 128-131.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб зниження мутагенності ксенобіотиків у еукаріотів, шляхом обробки еукаріотів антимутагенним чинником, який **відрізняється** тим, що як антимутаген використовують вплив червоного лазерного випромінювання з довжиною хвилі 655 нм щільністю потужності 2 мВт/см².

Комп'ютерна верстка І. Мироненко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601