

УДК 575.577.595

Н. Г. Гандірук, канд. біол. наук, доц. **Н. С. Задерей**, канд. біол. наук, ст. викл., **В. М. Тоцький**, д-р біол. наук, проф., зав. каф. Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра генетики і молекулярної біології, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ЖИТТЕЗДАТНІСТЬ ДРОЗОФІЛИ ЗА ТРИВАЛОГО ВЖИВАННЯ ЕКСТРАКТУ ЧИСТОТІЛУ

Вивчали генотипові особливості показників життєздатності різних ліній дрозофіли за тривалого вживання екстрактів чистотілу. З'ясовано, що краще пристосовані до нормальних умов генотипи є більш чутливими до токсичної дії алкалоїдів чистотілу. Вживання екстрактів чистотілу призводить до зменшення тривалості життя мух дикого типу C-S і мутантної лінії *sn*, яким властиві високі показники пристосованості. Плодючість мух мутантних ліній *sn* і *ug* є більш чутливою до надходження алкалоїдів чистотілу в організм, ніж мух дикого типу C-S. Стійкість до голодування за вживання екстракту чистотілу підвищується у мух мутантної лінії *ug*, яка має низькі показники пристосованості.

Ключові слова: алкалоїди чистотілу, дрозофіла, пристосованість, тривалість життя, плодючість, стійкість до голодування.

Різні ксенобіотики у переважній своїй більшості відносяться до екогенетичних чинників, оскільки ступінь їх дії на метаболізм та життєздатність певного індивіда визначається його генотипом [1]. Кожен генотип як цілісна система взаємодіючих генів забезпечує унікальну реакцію організму на той чи інший екогенетичний чинник, у тому числі лікарський препарат [2]. Сучасна медицина орієнтується на використання лікарських речовин природного походження, оскільки вони містять різноманітні біологічно активні компоненти (алкалоїди, флавоноїди, глікозиди та ін.), здатні відновлювати гомеостаз за різних патологій.

Однією з рослин, яку з давніх часів цінували як лікарську і використовували за різних захворювань (онкологічних, дерматологічних, холециститах, гепатитах та ін.), є чистотіл *Chelidonium majus* та лікарські препарати, створені на його основі, у тому числі протипухлинний препарат "Україн" [3,4]. Дія препаратів чистотілу на тваринний організм обумовлена високим вмістом у ньому 25-ти алкалоїдів, що відносяться до груп хеледонінів, берберинів, протопінів, хінолізидинів [5]. З літератури відомо [6], що за вживання людьми чистотілу у підвищених дозах проявляється його то-

ксичність на 6–15 день у вигляді сповільнення дихання та адинамії серця. Це обумовлено тим, що його терапевтичні дози близькі до токсичних. У медичній практиці, особливо за структурних патологій, необхідне тривале вживання алкалоїдів чистотілу, що може призвести до кумулятивного ефекту та прояву їх токсичної дії [7]. Разом з тим, до цих пір зовсім не надіялось уваги можливим віддаленим наслідкам тривалого вживання алкалоїдів, не вивчалися можливості онтогенетичної адаптації різних генотипів до постійного надходження останніх в організм. Для вивчення генотипових особливостей таких показників життєдіяльності, як тривалість життя, плодючість та ін., дуже зручним об'єктом досліджень є дрозофіла через відносно коротку тривалість життя, достатньо швидко зміну поколінь та наявність маркованих мутантних ліній, які мають різні генотипи. Враховуючи вищезазначене, метою даного дослідження було вивчення генотипових особливостей показників життєздатності різних ліній дрозофіли за тривалого вживання екстракту чистотілу.

Матеріали і методи дослідження

Для вивчення екогенетичних особливостей дії алкалоїдів чистотілу на життєздатність дрозофіли використовували мух дикого типу Canton-S і мутантних ліній з високою (cinnabar) та низькою (vestigial) пристосованістю. Поживне середовище містило водний екстракт чистотілу в кількості 0,05 чи 0,1 г в 1 мл середовища. Зазначені концентрації екстракту чистотілу у поживному середовищі були підібрані експериментально у попередніх дослідках. Нащадків досліджуваних ліній дрозофіли, отриманих на поживному середовищі з екстрактом чистотілу, використовували для вивчення показників життєздатності. Для визначення тривалості життя мух (по 20 особин кожної статі) утримували на дослідних поживних середовищах з вищенаведеними концентраціями екстракту чистотілу. Контролем слугували мухи, яких утримували на стандартному поживному середовищі без додання екстракту рослини. Підрахунок живих мух провадили щоденно, зміну поживних середовищ здійснювали на третю добу. Тривалість життя виражали кількістю днів, протягом яких відбувалася загибель 50% мух (L_{t50}) [8].

Плодючість мух у контролі та досліді визначали як кількість лялечкових пупаріїв та імаго у потомстві однієї самки, яка відклала яйця протягом трьох діб [9]. Стійкість мух, отриманих на поживному середовищі з екстрактом чистотілу, до голодування визначали, утримуючи їх у пробірках без корму (по 10 особин). Підрахунок живих мух провадили через кожні 3 години до повної загибелі мух у кожній пробірці і виражали в годинах, на які приходить загибель 50% мух (L_{t50}) [10].

Результати досліджень та їх аналіз

Дослідами виявлено значні відмінності чутливості мух до компонентів екстрактів чистотілу за тривалого вживання останніх різними за життєздатністю генотипами. Одна й та ж доза екстракту чистотілу у поживному середовищі є досить токсичною для одних генотипів дрозофіли і не токсичною для інших.

Наявність у поживному середовищі алкалоїдів чистотілу у дозі 0,1 г/мл призводить до зниження тривалості життя мух дикого типу *C-S* і мутантної лінії *cn* на 35% і 33% відповідно (табл. 1). Слід зазначити, що ці лінії мух мають високі показники пристосованості і значно більшу тривалість життя, ніж мухи лінії *vg*. Останні виявляють на 59% нижчу тривалість життя порівняно з мухами дикого типу і на 65% нижчу порівняно з мухами *cn*. За вживання екстракту чистотілу тривалість їх життя зберігається на рівні контролю. Такі генотипові особливості досліджуваного показника певною мірою можна пояснити тим, що ознака тривалості життя як складова пристосованості залежить від наявності коадаптаційного комплексу генів [11]. Генотипам із сформованими адаптаційними комплексами генів (*C-S*, *cn*) притаманна значна тривалість життя, але алкалоїди чистотілу, можливо, порушують оптимальний генний баланс, і тим чи іншим чином негативно впливають на життєздатність. Відомо [12, 13], що певні алкалоїди чистотілу, зокрема алокриптопіни, протопіни, бербєрини здатні взаємодіяти з ДНК, що може призвести до зміни експресивності генів. Такі алкалоїди як хелідонін, гомохелідонін і метоксихелідонін є мітотичними ядами, які діють на стадії утворення веретена поділу. Антимітозна активність цих алкалоїдів обумовлена присутністю в їх молекулі стильбіламіної групи [14]. Існує думка, що алкалоїди хелеритрин та сангвінарин проявляють цитотоксичну активність на стадії інтерфази [7]. Однак, не виключено, що в окремих випадках це може не призводити до істотних змін тривалості життя. Саме про це свідчать досліді з низькоприсосованими мутантними мухами лінії *vg*, у яких за наявності екстракту чистотілу в поживному середовищі тривалість життя особин не падає (табл. 1).

Таблиця 1

Тривалість життя особин різних ліній дрозофіли за вживання екстракту чистотілу (Lt_{50} , дні)

Умови досліду	Лінії	Самки	Самці	Самки і самці
Контроль	<i>C-S</i>	16.6 ± 1.8	17.6 ± 1.7	17.1 ± 1.7
	<i>cn</i>	19.7 ± 1.2	21.9 ± 2.6	20.3 ± 2.4
	<i>vg</i>	6.8 ± 0.6**	7.8 ± 0.8**	7.3 ± 0.7**

Закінчення таблиці 1

Умови досліду	Лінії	Самки	Самці	Самки і самці
Чистотіл в дозі 0,05 г/мл	<i>C-S</i>	15,9 ± 1,7	16,9 ± 1,7	16,4 ± 1,7
	<i>cn</i>	19,9 ± 1,8	20,7 ± 2,1	20,3 ± 1,9
	<i>vg</i>	7,0 ± 0,6	7,4 ± 0,8	7,2 ± 0,7
Чистотіл в дозі 0,1 г/мл	<i>C-S</i>	8,2 ± 0,9*	13,8 ± 1,3*	11,2 ± 1,1*
	<i>cn</i>	10,2 ± 1,9*	17,0 ± 1,9*	13,8 ± 1,8*
	<i>vg</i>	6,4 ± 0,7	6,9 ± 0,7	6,7 ± 0,7

* — зміна тривалості життя вірогідна порівняно з контролем; ** — різниця вірогідна порівняно з мухами *C-S*.

Виявлено значні статеві відмінності чутливості мух до алкалоїдів чистотілу. Якщо за наявності в середовищі 0,1 г екстракту чистотілу тривалість життя самців дикого типу *C-S* зменшилась лише на 20%, то у самок за цих же умов це зменшення склало 51%. Ця закономірність притаманна і мухам лінії *cn*, хоч ступінь вираженості змін у цьому випадку є меншим (23% і 48% відповідно).

Плодючість мух також залежить як від генотипу [9], так і від дози екстракту чистотілу у поживному середовищі. Якщо у мух дикого типу *C-S* плодючість знижується лише за наявності у поживному середовищі екстракту з 0,1 г чистотілу, то у мутантних мух *cn* і *vg* цей показник вірогідно зменшується вже за концентрації 0,05 г/мл середовища (табл. 2).

Таблиця 2

Плодючість різних ліній дрозофіли на поживному середовищі з екстрактом чистотілу

Лінії мух	Контроль		Дослід, концентрація екстракту			
	Число лялечкових пупаріїв	Число особин imago	0,05 г/мл		0,1 г/мл	
			Число лялечкових пупаріїв	Число особин imago	Число лялечкових пупаріїв	Число особин imago
<i>C-S</i>	50 ± 7	45 ± 5	53 ± 6	48 ± 6	37 ± 4*	28 ± 3*
<i>cn</i>	67 ± 9	61 ± 8	40 ± 8*	37 ± 7*	34 ± 6*	32 ± 5*
<i>vg</i>	36 ± 4**	34 ± 4	24 ± 3*	21 ± 3*	13 ± 2*	11 ± 2*

* — різниця вірогідна порівняно з контролем; ** — різниця вірогідна порівняно з мухами лінії *C-S*.

Таким чином, мухи ліній *C-S*, *cn* і *vg* по-різному реагують на тривале надходження в організм алкалоїдів чистотілу. Зокрема, мухи лінії *cn* з високою пристосованістю виявилися більш чутливими до токсичної дії алкалоїдів. Вони реагують на вживання чистотілу як зниженням тривалості життя (0,1 г чистотілу/мл середовища), так і зниженням плодючості (0,05 г чистотілу/мл середовища). У мух лінії *vg*, яким властиві низькі показники тривалості життя, плодючість зменшується за обох концентрацій екстракту чистотілу у середовищі. Плодючість мух дикого типу *C-S*, визначена за кількістю нащадків імагінального віку, стає чутливою до чистотілу лише за підвищення його концентрації у поживному середовищі до 0,1 г/мл.

Отримані результати свідчать, що за тривалого вживання алкалоїдів чистотілу можуть виникати віддалені наслідки їх токсичної дії, що може виражатися скороченням тривалості життя та негативним впливом на репродуктивну сферу. Ступінь вираженості цих негативних впливів значною мірою визначається особливостями пристосованості окремих генотипів.

Вживання алкалоїдів чистотілу як лікарського засобу при холециститах та гепатитах може поєднуватися з обмеженим надходженням в організм поживних речовин, оскільки ці хвороби потребують суворої дієти. Враховуючи ці обставини, важливо визначити генотипові особливості дії екстракту чистотілу на такий показник життєздатності, як стійкість до голодування (табл. 3). Отримані результати свідчать, що алкалоїди чистотілу неоднозначно впливають на стійкість різних генотипів до голодування. Зокрема, тривале вживання алкалоїдів чистотілу мухами лінії *vg* привело до підвищення їх виживання в умовах повного голоду на 6,8 години, в той час як стійкість до голодування мух ліній *C-S* і *cn* не змінюється.

Таблиця 3

Тривалість життя дрозофіли в умовах голодування (Lt_{30}), год

Лінії	Умови вирощування мух	
	Контроль	Екстракт чистотілу в дозі 0.1 г/мл середовища
<i>C-S</i>	40.4 ± 2.3	37.3 ± 2.7
<i>cn</i>	36.2 ± 2.8	33.5 ± 2.0
<i>vg</i>	42.1 ± 2.7	48.9 ± 2.5*

* — різниця вірогідна порівняно з контролем.

Таким чином, результати досліджень вказують на те, що токсичний вплив алкалоїдів чистотілу залежить від конкретного генотипу досліджуваних мух. Прямої залежності між вираженістю біологічних ефектів екстракту чистотілу і рівнем пристосованості окремих генотипів дрозофіли не виявлено.

Висновки

1. Зниження тривалості життя за вживання екстракту чистотілу притаманне мухам дикого типу *C-S* та мутантної лінії *sp* — генотипам, яким властивий високий рівень показників пристосованості.

2. Тривалість життя самок дрозофіли дикого типу *C-S* і мутантної лінії *sp* за вживання екстракту чистотілу знижується у 2 рази, а самців — в 1,25 рази.

3. Плодючість мух мутантних ліній *sp* і *vg* вірогідно знижується за концентрації екстракту чистотілу у поживному середовищі 0,05 г/мл, а мух дикого типу *C-S* — лише за концентрації 0,1 г/мл.

4. За тривалого вживання екстракту чистотілу зростає стійкість до голодування мух мутантної лінії *vg*, але не мух ліній *C-S* та *sp*.

Література

1. Фогель Ф., Мотульські А. Генетика человека. — М.: Мир, 1990. — Т. 2. — С. 115–119.
2. Бочков Н. П. Клиническая генетика. — М.: Медицина, 1997. — С. 12–21.
3. Современная фитотерапия / Под ред. В. Петкина. — София: Медицина и физкультура, 1998. — С. 202.
4. Потопальский А. И., Петличная Л. Н., Ивасивка С. В. Модификация алкалоида берберина. — К.: Наук. думка, 1982. — 110 с.
5. Генри Т. А. Химия растительных алкалоидов. — М.: Госхимиздат, 1956. — 317 с.
6. Потопальский А. И. Препараты чистотела в биологии и медицине. — К.: Наукова думка, 1954. — 236 с.
7. Балицкий К. П., Воронова А. Л. Лекарственные растения и рак. — К.: Наукова думка, 1982. — С. 151–161.
8. Тоцький В. Н., Хаустова Н. Д., Андриевский А. М., Гандирук Н. Г., Есеркенова Е. В. Экспрессивность ген-энзимных систем и показатели жизнеспособности в онтогенезе инбредных линий и гибридов дрозофилы // Генетика. — 1990. — Т. 26, № 2. — С. 1791–1799.
9. Тоцький В. М., Гандирук Н. Г., Ланцман І. В. Життєздатність і частота кросинговеру на ділянці *b-cp* хромосоми 2 у *Drosophila melanogaster*, за вмісту солей тяжких металів у поживному середовищі // Вісник ОНУ. — 2003. — Т. 8, Вип. 1. — С. 75–80.
10. Dorado G., Barbancho M. Differential responses in *D. melanogaster* to environmental ethanol: modification of fitness components at *Adh* locus // Heredity. — 1984. — Vol. 53. — N 2. — P. 309–320.
11. Тоцький В. Н., Хаустова Н. Д., Гандирук Н. Г. Генный баланс и адаптация природных и искусственно созданных генотипов *Drosophila melanogaster* // Труды по фундаментальной и прикладной генетике (к 100-летию юбилею генетики). — Харьков: Штрих, 2001. — С. 140–151.

12. Турова А. Д., Лесков А. И., Бичевина В. И. // Лекарственные средства из растений. — М.: Медгиз, 1962. — С. 303–307.
13. Селиванова Л. Н. Фармакологическое исследование алкалоидов аллокриптопина, протопина, берберина: Автореф. дис... канд. биол. наук. — М., 1954. — 13 с.
14. Lettre H., Albrecht M. Weitere unter suchungen ber eine mitosegiftwirkung von alkaloiden // Z. Physiol. Chem., 1951. — Т. 287. — S. 53–58.

Н. Г. Гандирук, Н. С. Задерей, В. Н. Тоцкий

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ДРОЗОФИЛЫ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ УПОТРЕБЛЕНИИ ЭКСТРАКТОВ ЧИСТОТЕЛА

Резюме

Изучали генотипические особенности показателей жизнеспособности разных линий дрозофилы при длительном употреблении экстракта чистотела. Установлено, что лучше приспособленные к нормальным условиям генотипы более чувствительны к токсическому действию чистотела. Употребление экстрактов чистотела приводит к снижению продолжительности жизни мух дикого типа *C-S* и мутантной линии *cn*, которые обладают высокими показателями приспособленности. Плодовитость мух мутантных линий *cn* и *vg* выявилась более чувствительной к поступлению алкалоидов чистотела в организм по сравнению с мухами дикого типа *C-S*. Устойчивость к голоданию при употреблении экстрактов чистотела повышается у мух мутантной линии *vg*, которой свойственны низкие показатели приспособленности.

Ключевые слова: экстракт чистотела, дрозофила, приспособленность, продолжительность жизни, плодовитость, устойчивость к голоданию.

N. G. Gandiruk, N. S. Zaderey, V. N. Totskiy

Odessa National University, Department of Genetics and Molecular Biology,
Dvoryanskaya St. 2, Odessa, 65026, Ukraine

VITABILITY OF DROSOPHILA IN EXTENDED USE CHELIDONIUM MAJUS EXTRACT

Summary

Genotypic peculiarities of viability of different lines of drosophila in extended Chelidonium majus extract has been studied. It's was found out that the best adapted to normal circumstances genotypes are more sensitive to toxic action of Chelidonium majus. Using of extracts of Chelidonium majus leads to reducing of life span of flies of the wild type *C-S* and mutant line, which have high indicators of suitability. Fertility of mutant lines flies *cn* and *vg* appeared to be more sensitive to receipts of alkaloigen of Chelidonium majus into the organism compared with flies of the wild type. Stability to

Життєздатність дрозофіли за вживання екстракту чистотілу

starvation by using of *Chelidonium majus* extracts elevates in flies mutant line *vg*, inhereted low index of suitability.

Keywords: extract *Chelidonium majus*, drosophila, suitability, life span, fertility, stability to starvation.