

VAIRĀKU BIOLOĢISKI AKTĪVU VIELU GENOTOKSICITĀTES PĒTĪŠANA

EVALUATION OF THE GENOTOXIC EFFECTS OF SOME BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

Jēkabs Raipulis, Malda Maija Toma

Latvijas Universitātes Mikrobioloģijas un biotehnoloģijas institūts
Kronvalda bulv 4, Rīga jekabs.raipulis@rpiva.lv

Abstract. *There are more and more substances coming in contact with people and environment, they have got genotoxic features, which cause hereditary illnesses and tumors. Though cancer treatment becomes more and more effective, still the amount of deaths from tumors caused by harmful substances are increasing from year to year. To reduce the effects of these harmful substances, they should be detected and avoided*
*To perform experiments using *Saccaromyces cerevisiae* mutagenicity test system and *Escherichia coli* SOS chromotest to find out biologically active substances used in labs and industry, also its mixture or separate compounds possessing genotoxicity with other substances. The genotoxic properties of 11 substances were studied. Results showed that formaldehyde, urethane, acridine orange, acridine yellow, furazolidone, nalidixic acid, hydrogen peroxide, potassium bichromate, was a strong inducers of the genotoxic disorders.*

Keywords: *genotoxins, genotoxicity, mutagens, carcinogens, E.coli SOS chromotest.*

Ievads

Veicot eksperimentus zinātniskajās laboratorijās un analīzes medicīnas un ražošanas laboratorijās, iznīcinot mikroorganismus – vīrusus, baktērijas, sēnītes un viēšņus – tiek izmantotas vielas ar augstu bioloģisko, tajā skaitā mutagēno un kancerogēno (genotoksisko) aktivitāti [1]. Kontaktā ar šīm vielām atrodas samērā daudz cilvēku. Diemžēl par daudzām no tām trūkst informācijas, kādas novirzes cilvēkam tās izraisa. Galvenā šo vielu izmantošanas bīstamība ir saistīta ar to genotoksicitāti (mutagenitāti, kancerogenitāti un teratogenitāti), kura neizpaužas tūlīt, bet gan pēc gadu desmitiem vai tikai nākamajās paaudzēs.

Taču ne tikai darbinieku saskarsmes dēļ ar laboratoriju ķīmiju tās ir jāpēta. Genotoksicitātes pārbaudes nepieciešamību nosaka vēl šādi aspekti:

- 1) ūdeņu un citu vides substrātu piesārņošana, kuros nonāk laboratoriju ķīmija [2,3];
- 2) eksperimentu kļūdu veidošanās, lietojot fiksatorus ģenētiskā materiāla izmaiņu pētīšanai, kuri paši izraisa ģenētiskās izmaiņas [1];
- 3) vielu ar dezinficējošām īpašībām izmantošana medicīnā, pārtikas produktu un kosmētikas materiālu pasargāšanai no infekcijām [3];
- 4) vairāku no šīm vielām izmantošana plašākā ražošanā (formaldehīda, kālija dihromāta, ūdeņraža peroksīda u.c.), no kurienes tās nonāk apkārtējā vidē [4,1].

Šīs vielas jau ilgāku laiku ir zinātnieku uzmanības centrā, bet vēl pilnīgi droši noteikt to bīstamības pakāpi cilvēkam nevar. Neviena no līdz šim pielietotajām genotoksicitātes noteikšanas metodēm nedod 100% atbildi par to, vai attiecīgā viela ir genotoksiska cilvēkam, vai nav. Ar visbiežāk izmantojamajām ekspresmetodēm – Ames testu (*Salmonella typhimurium* testkultūras) un *Escherichia coli* SOS hromotestu – iegūtie pozitīvie rezultāti 60-70% sakrīt ar šo vielu kancerogenitāti zīdītājiem. Taču, ja viela neuzrāda genotoksisko aktivitāti ar minētajām testkultūrām, tas vēl nenozīmē, ka tai nav šādas iedarbības uz zīdītājiem un cilvēku. It īpaši tas attiecas uz vielām, kuras zīdītāju organismā aktivē citohroma P-450 sistēma. Šo vielu genotoksicitātes izvērtēšanu un bīstamības noteikšanu apgrūtina arī tas, ka vairums no tām aktivitāti uzrāda samērā šaurās pH, temperatūras un koncentrāciju robežās. Mūsu darba mērķis bija vairāku sadzīvē un laboratorijās izmantojamo vielu pārbaude uz genotoksisko aktivitāti ar mikroorganismu testsistēmām.

Materiāli un metodes

Darbā izmantotas rauga *Sacharomyces cerevisiae* Peterhofas XII rases ģenētiskās līnijas, no kurām iegūtas adenīna deficītas (auksotrofas) diploīdas *ade2* gēna heteroalēlas H9 un H10 kultūras, ar kurām pētīta spontānās un inducētās konversijas biežuma rašanās un elpošanas deficīto mutantu veidošanās. Uzskaitot inducētās konversijas biežumu un elpošanas deficītos mutantus, analizēta formaldehīda un uretāna genotoksicitāte [5]. Tāpat izmantojām konkrētajiem pētīšanas apstākļiem ļoti jutīgo un arī precīzi kalibrējamo *Escherichia coli* SOS hromotesta metodi. Metode balstās uz divu fermentu – β -galatozidāzes, kuras aktivitāti ietekmē DNS bojājumi, un DNS bojājumu neinducējamā fermenta – sārmainās fosfatāzes aktivitāšu spektrofotometriskās noteikšanas metodi [6]. Inducējamā fermenta β -galatozidāzes aktivitātes palielināšanās pret neinducējamā fermenta – sārmainās fosfatāzes – aktivitāti, iedarbojoties ar analizējamo vielu, liecina par bojājumu rašanos DNS molekulā, t.i., genotoksicitāti. β -galatozidāzes un sārmainās fosfatāzes aktivitātes aprēķina pēc Kvaolarda un Hofnunga metodes [7]: vienības= $A_{420} \times 10^3 / t$ (A_{420} =optiskā blīvuma vienības= $A_{420} \times 10^3 / t$ pie 420 nm; t- substrāta pārveidošana minūtēs). Indukciju augstāku par 1,5 uzskata par robežu, virs kuras pētāmā aģenta iedarbība ir izraisījusi ģenētiskās izmaiņas. Ar *E.coli* SOS hromotesta metodi analizējām vairāku laboratorijās un medicīnas iestādēs izmantojamo dezinfekcijas vielu (kālija dihromātu, formaldehīdu, ūdeņraža peroksīdu, furezolidonu), fiksatorus, gatavojot citoloģiskus preparātus hromosomu aberāciju pētīšanai (glutaraldehīdu, formaldehīdu), preparātu krāsvielas (akridīndzeltenais, akridīnoranžais), antibiotisko vielu (nalidiksīnskābi). Pētījām vielas, kuras izmanto olbaltumvielu izdalīšanai un lipīdu šķelšanai (hloroformu, acetonu), kā arī vairākas anestēzijas vielas, kuras šobrīd tiek izmantotas, veicot ķirurģiskās operācijas vai citas medicīniskās procedūras. Pētījumi veikti LU Mikrobioloģijas un biotehnoloģijas institūtā.

Rezultāti un to izvērtējums

Izmantojot *E.coli* SOS hromotesta metodi, mēs pārbaudījām 11 laboratorijās samērā plaši izmantotas vielas: krāsvielas – akridīndzelteno un akridīnoranžo, fiksatorus – glutaraldehīdu, formaldehīdu, dezinfekcijas un laboratoriju trauku mazgāšanas līdzekļus – kālija dihromātu, formaldehīdu, ūdeņraža peroksīdu, šķīdinātājus – acetonu, hloroformu un medicīnā un ražošanā izmantojamo uretānu un nalidiksīnskābi.

Indukciju, augstāku par 1,5, kas ir robeža, virs kuras vielu uzskata par ģenētiskas izmaiņas izraisīšu, mūsu eksperimentos uzrādīja furazolidons, formaldehīds, nalidiksīnskābe, ūdeņraža peroksīds, kālija dihromāts, akridīnoranžais un akridīndzeltenais (1.tabula). Zem šīs robežas, tāpat neizraisa ticamas ģenētiskās izmaiņas – acetons, glutaraldehīds, hloroforms un uretāns

I.tabula

Ar *E.coli* SOS hromotestu analizēto vielu genotoksicitāte

N.p.k	Vielas	Koncentrācija, mg/ml	Indukcija
1	Acetons - $(CH_3)_2CO$	0,50	0
2	Akridīndzeltenais	0,30	4,0
3	Akridīnoranžais	0,25	1,8
4	Formaldehīds - HCHO	$5,10^{-4}$	2,2
5	Furazolidons	$2,0 \cdot 10^{-5}$	10,7
6	Glutaraldehīds	0,10	0
7	Hloroforms	0,20	0
8	Kālija dihromāts - $K_2Cr_2O_7$	0,20	1,7
9	Nalidoksīnskābe	$1,10^{-4}$	12,8
10	Uretāns	0,50	0
11	Ūdeņraža peroksīds - H_2O_2	$1,10^{-4}$	3,3

Par uretānu jau varēja prognozēt negatīvu rezultātu, jo uretāns ir metaboliski aktivējama viela, tātad genotoksisko aktivitāti iegūst eikariotu šūnās, kurās ir citohroma cit-450 sistēma, kas metabolizē ksenobiontus. Visaugstāko indukcijas pakāpi – 12,8 – uzrādīja naldoksīnskābe, furazolidons – 10,7, citas zemāku. Genotoksicitātes noteikšanai izmantotās vielu koncentrācijas ir zemākas par letalitāti izraisošajām.

Formaldehīda genotoksicitāte tika noskaidrota, arī izmantojot *S.cerevisiae* mutāciju noteikšanas sistēmu. Izmantoto formaldehīda koncentrāciju robežās no 1µg/ml līdz 70µg/ml, rauga šūnu izdzīvotība krītas no 99,8% līdz 0. Šajās koncentrācijās proporcionāli formaldehīda devas pieaugumam palielinās alēlās konversijas biežums, taču elpošanas mutantu rašanās biežums ir niecīgs. Formaldehīds nelielās koncentrācijās ir dabisks šūnu metabolīts. Iespējams, tādēļ ir ierobežota tiešo punktveida mutāciju rašanās raugam.

2.tabulā ir apkopoti literatūras dati par mūsu pētīto vielu genotoksicitāti citās mutāciju uzskaites sistēmās.

2.tabula

Analizēto vielu genotoksicitāte dažādās testsistēmās

Vielas nosaukums	Izman- tošana	Ames tests	SOS hromo tests	Zīdītāju sistēmās	Kancerogēns cilvēkam	Gonado- toksisks
Acetons	Šķīdinātājs	-	-	-	-	-
Akridīndzeltenais	Krāsviela	+	+	-	-	-
Akridīnoranžais	Krāsviela	+	+	-	-	-
Dihromāts	Oksidants	+	+	Mikronukl	1.gr. kancerogēns	-
Formaldehīds	Fiksators, dezinfekc.	+	+	Klastogens DNS pārrāvumi mut. limf.	2.B gr. kancerogēns	-
Furazolidons	Dezinfekc.	+	+	Mutagēns	Nav pētījumu	Spermato- toks.
Glutaraldehīds	Fiksators	+	-	-	-	Embriotoks.
Hloroforms	Šķīdinātājs	-	-	+	-	-
Ūdeņraža peroksīds	Oksidants	+	-	+	-	-
Naldoksīnskābe	Dezinfekc.	+	+	Nav inform.	Nav inform.	-
Uretāns	Medic.	-	-	Mutagēns	Kancerogēns	-

Formaldehīda mutagēnā aktivitāte ir konstatēta daudzās organismu grupās no baktērijām līdz zīdītājiem (2.tabula) [8;4]. Formaldehīdam ir konstatēts arī sinerģiskais efekts mijiedarbībā ar jonizējošo radiāciju un N-metilurīnvielu eksperimentos ar Ķīnas kāmišu plaušu fibroblastu šūnām [9]. Formaldehīdam ir arī kancerogēnais efekts zīdītāju modeļsistēmās [10]. Lietojot formalīnu dezinfekcijai koncentrācijā (3,7%), tas izraisa DNS bojājumus analizēto augu un sēņu šūnās [1]. Tāpat formaldehīda kancerogenitāte ir konstatēta epidemioloģiskajos pētījumos cilvēku grupās, kas atrodas regulārā saskarē ar formaldehīdu. Noskaidrots, ka, formaldehīdu lietojot kā fiksatoru bioloģisko preparātu pagatavošanā, tas izraisa hromosomu pārrāvumus. Tātad iegūtie rezultāti par kāda faktora ietekmi uz hromosomu struktūru var neatspoguļot īsteno sakarību, jo preparāta sagatavošanā būs radīti bojājumi.

Rauga *S.cerevisiae* testsistēmā uretāna iedarbības rezultātā palielinās gan alēlās konversijas biežums, arī elpošanas deficīto mutantu rašanās biežums, kas pārlicinoši apstiprina uretāna genotoksicitāti eikariotu sistēmās. Zemākajās uretāna koncentrācijās konversijas biežuma

pieaugums ir proporcionāls uretāna koncentrācijas pieaugumam. Taču, sasniedzot noteiktu uretāna koncentrāciju, konversijas biežums nepalielinās. Šo efektu var izskaidrot ar to, ka uretāna genotoksiskā aktivitāte ir atkarīga no šūnas metaboliskās uretāna pārveidošanas par epoksietilkarbamīdu [11]. Ja uretāna koncentrācija ir augstāka par to, ko spēj pārveidot metaboliskās aktivācijas sistēma, konversijas biežums nepalielinās. Uretānu izmanto farmakoloģisko preparātu sastāvā, tajā skaitā arī kā pretvēža ķīmiskās terapijas līdzekli. Uretāna genotoksiskā aktivitāte liek uzmanīgi izturēties pret šīs vielas izmantošanu medicīniskajos preparātos un nonākšanu kontaktā ar cilvēku. Taču *E.coli* SOS hromotesta eksperimentos uretāns neuzrāda genotoksisko aktivitāti (1.tabula). Eksperimentāli pārbaudot vairāku vielu genotoksisko efektu ar *Saccharomyces cerevisiae* konversijas inducēšanas testu un *E.coli* SOS hromotestu, tika konstatēta abu testsistēmu zināma atšķirība jutībā uz noteiktām genotoksiskajām vielām. Tā, piemēram, formaldehīds un uretāns, kuri ļoti efektīvi inducēja ģenētiskās izmaiņas *S.cerevisiae* testā, ar *E.coli* SOS hromotestu uzrādīja tikai vāju genotoksicitāti. Ja uretāna iedarbības atšķirības var izskaidrot ar citohroma P-450 trūkumu *E.coli* šūnās – uretāns ir metaboliski aktivējama genotoksīns, tad formaldehīda jutības atšķirībai ir jāmeklē cits izskaidrojums.

Uretāna un formaldehīda vienlaicīga iedarbība deva aditīvo, t.i., summējošu konversijas biežumu inducējošo efektu. Tā kā formaldehīdam bija konstatēts sinerģētiskais efekts ar dažiem citiem mutagēniem, to varēja sagaidīt arī mijiedarbībā ar uretānu. Tomēr šis efekts izpalika.

Pārbaudot vairāku medikamentu iespējamo genotoksicitāti ar SOS hromotestu, konstatējām, ka preparāts furazolidons izraisa ievērojamu mutāciju daudzuma pieaugumu. Furazolidons – N-(5-nitro-2furfulidīdium)-3 – aminooksizolidons 2. Sastopams arī ar nosaukumu Diafurons, Furosons, Neftins, Neokolens, Nifulidons u.c., dzeltens vai zaļgandzeltens pulveris, bez smaržas, ar rūgtenu garšu. Efektīvs pret grampozitīvām un gramnegatīvām baktērijām. Lieto galvenokārt zarnu infekciju (dizentērijas, vēdertīfa, paratīfa) un pārtikas toksisko infekciju ārstēšanai. Lieto arī lambliozes un trihomozes ārstēšanai. Vāji iedarbojas uz strutainām un anaerobām infekcijām. Izmanto alkoholisma ārstēšanai, jo tas iedarbojoties caur monoaminoxidāzi (MAO) izraisa riebumu pret alkoholu. Furozolidonu izmanto kā dezinfekcijas līdzekli laboratorijās. Furazolidona kancerogēnais efekts ir konstatēts pētījumos ar zivīm [12]. Tā genotoksicitātes dēļ, cilvēkiem vajadzētu cenzties izvairīties no saskarsmes ar to.

Antibiotiskā viela – nalidiksīnskābe, kam ir plašs baktericidais iedarbības spektrs un ko lieto kā dezinfekcijas līdzekli, uzrāda augstu genotoksisko aktivitāti mūsu pētījumā ar SOS hromotesta metodi, tāpat arī pētījumos ar Ames testu [2]. Diemžēl literatūrā nav atrodami pētījumi, kuros šī viela būtu pārbaudīta ar citām testsistēmām eikariotu sistēmās.

No laboratorijās izmantojamajiem citostatiķiem, preparātu fiksatoriem, preparātu krāsvielām – dihromāts, ūdenraža peroksīds, akridīnoranžais. Plaši izmantojamais ūdenraža peroksīds kā spēcīgs oksidants veido hidroksila radikālu, kurš iedarbojas uz šūnu lipīdiem, olbaltumvielām un DNS. *E.coli* SOS hromotestā minētās vielas uzrāda genotoksisko aktivitāti. Literatūras avotos ir atrodama informācija, ka kālija dihromātam un ūdenraža peroksīdam ir genotoksiskā aktivitāte augstāko organismu testsistēmās (2.tabula) [14].

No apgrozības hloroforms kā anestēzijas līdzeklis ir izņemts tā toksicitātes dēļ. SOS hromotestā hloroforms neuzrāda genotoksisko aktivitāti. Tagad hloroformu lieto galvenokārt laboratorijās lipīdu šķīdināšanai un olbaltumvielu izdalīšanai, kur tas nonāk saskarē arī ar pētniekiem. Hloroforms rodas arī dzeramā ūdens hlorēšanas rezultātā. Hloroforms ir kancerogēns un gonadotoksisks augstākajiem organismiem [13]. Diemžēl hloroforma genotoksicitātes noteikšana, tajā skaitā arī ūdenī, ir saistīta ar vairākām problēmām. Hloroforma genotoksicitāti var pārbaudīt, tikai izšķīdinot to eļļās. Atkarībā no tā, kādā eļļā ir šķīdināts hloroforms, izmainās tā genotoksicitāte. Tādēļ hloroforma, kurš veidojas dzeramajā

ūdenī hlorēšanas rezultātā, genotoksicitāti pētīt ir grūti. Hloroforms turklāt neizraisa ģenētiskās izmaiņas mikroorganismu testsistēmās (Ames testā un *Escherichia coli* SOS hromotestā), jo jānotiek tā metaboliskajai aktivēšanai. Augstāko organismu šūnās hloroforms tiek pārvērsts par fosgēnu, kurš arī izraisa ģenētiskos bojājumus [15]. Acīmredzot hloroforma testēšanai ar mikroorganismiem ir jāizstrādā tā aktivācijas sistēma.

Ar *E.coli* SOS hromotestu pārbaudījām arī trīs šobrīd medicīnā izmantojamās anestēzijas līdzekļus – ketalaru, etomidātu un rekofolu. Ketalaram ar SOS hromotestu tika konstatēta genotoksiskā aktivitāte. Ketalars – 2-(orto-horfenil)-2-(metilamino)-cikloheksanona hidroksīds, zināms arī ar nosaukumu kalipsols, ketamīns, vetalars u.c. – ir balts, kristālisks pulveris, viegli šķīdināms ūdenī (pH 3,5 – 5,5). Lieto vispārējai anestēzijai, ievadot vēnā vai muskulī. Etomidāts un rekofols atsevišķi neizraisīja genotoksisko efektu. Taču ketalara, etomidāta un rekofola maisījums deva 2 reizes augstāku genotoksisko efektu, nekā lietojot ketalaru vienu pašu. Tātad etomidāts un rekofols, nebūdami ar genotoksisko aktivitāti, palielina ketalara genotoksisko efektu. Šis fenomens vēl ir jāpēta sīkāk

Genotoksicitātes noteikšanas rezultāti vienmēr ir saistīti ar dažādu blakus faktoru ietekmi, tādēļ dažādos pētījumos, strādājot pat ar vienu un to pašu testsistēmu, nereti ir atšķirīgi rezultāti. Svarīgi, kādas vielas vienlaicīgi ar pārbaudāmo vielu atrodas maisījumā. Piemēram, H_2O_2 genotoksisko aktivitāti ievērojami paaugstina dzelzs jona klātbūtne [16]. Vai arī C vitamīnam nav genotoksiskās aktivitātes, bet vara klātbūtnē tā parādās. Acīmredzot abos gadījumos veidojas aktīvie skābekļa radikāļi, kas arī izraisa DNS bojājumus. Formaldehīds tīrā veidā nav izteikti genotoksisks, bet fiksatoros kopā ar etanolu izraisa ievērojami vairāk DNS bojājumu. Formaldehīds kļūst genotoksiskāks arī pie pH 3 un 40°C, salīdzinot ar aktivitāti pie pH 7 un istabas temperatūrā. Mūsu pētījumā iegūtie rezultāti liek ļoti rūpīgi izvērtēt tās vielas un reaģentus, ar kuriem laboratorijās un sadzīvē bieži nonākam saskarē, ja tie uzrāda genotoksisko aktivitāti jau mikroorganismu testsistēmās. Tomēr galīgos secinājumus var izdarīt tikai tad, ja ir veikti ne tikai pētījumi, bet arī ar apkopoti epidemioloģiskie materiāli [17].

Summary

In this day pollution by organic compounds in the environment extends widely and the effects on human health are feared. More substances coming in contact with people and environment have got genotoxic features, which cause hereditary illnesses and tumors. Though cancer treatment becomes more and more effective, still the amounts of deaths from tumors caused by harmful substances are increasing from year to year. To reduce the effects of these harmful substances, they should be detected and avoided. Determination of genotoxic pollution and its dangerousness for living being is possible only with using biological methods. Unfortunately, there is no one universal system what lets us to determine the genotoxicity of some chemicals, which are widely used in laboratories (for scientific and practical purposes) as organic solvents, cytostatics, disinfectants and at al.

The researches are based on the yeast *Saccharomyces cerevisiae* and SOS chromotest of the bacteria *Escherichia coli* test systems. *Saccharomyces cerevisiae* diploids H9 and H10 were obtained from Peterhoff genetic lines of XII race yeast. Heteroallelic diploids are adenine-deficient, and they accumulate red pigment in their cells. The number of secondary white colonies estimates the frequency of conversion. [5] Genotoxicity assays were carried out using SOS chromotest. This test is based on using the genetically modified *Escherichia coli* PQ37 strain, in which the lacZ is under the control of the *sfIA* gene. [6] Genotoxicity in samples was detected measuring the activity of SOS response of tester organism by evaluating β -galactosidase and alkaline phosphates activities were calculated according to Quillardet and Hofnung [7] $unites = A_{420} \times 10^3 / t$ (A_{420} = optical density units = $A_{420} \times 10^3 / t$ at 420 nm; t - substrate conversion time in min). The SOS chromotest has been successfully applied for estimation of

chemical compounds, which are industrially important, and widespread in the environment and in our food.

To perform experiments using SOS chromotest to find out biologically active substances used in labs – acetone, acridine orange, acridine yellow, chloroform, formaldehyde, furazolidone, glutaraldehyde, hydrogen peroxide, nalidixic acid, potassium dichromate and urethane.

The induction efficiency of gene conversion as well as the induction of respiratory-deficiency mutants of mutagens' both weak with expressed carcinogenity – urethane and strong with indistinct carcinogenity – formaldehyde where analysed with help of *Saccharomyces cerevisiae* gene *ade-2* lines adopted for the registration of gene conversion and respiratory-deficiency mutants. It was found that the activity of gene conversion induction depending on the substance concentration increases when the amount of yeast cell treatment substance grows. Increasing the amount of urethane more, the linear relationship disappears. It is known that the genotoxicity of urethane depends on its' metabolic activation. Therefore these results show that enzymes that metabolize urethane are able to convert only certain amount of urethane. Urethane induces respiratory-deficiency mutants as well.

Formaldehyde is an extremely reactive chemical that interacts with proteins, DNA and RNA *in vitro*. Formaldehyde is bactericidal, sporicidal and virucidal.

Formaldehyde induces the increase of conversion frequency as well. It takes place in formalde sublethal doses. The fact that formaldehyde induces gene conversion well and it causes the formation of respiratory-deficiency mutants at test that formaldehyde has carcinogenic activity. The genotoxic properties of 11 substances were studied using SOS chromotest. Results showed that furazolidone, nalidixic acid, hydrogen peroxide, potassium dichromate, acridine orange and acridine yellow was strong inducers of the SOS-repair system in strain of *E.coli* PQ37. The maximum values of IF coefficient of nalidixic acid influence was 12,8 at a dose $1 \cdot 10^{-4}$ of furazolidone - was 10,7 at a dose of 12,5 nmol per sample. Therefore, nalidixic acid and furazolidone undoubtedly is a genotoxic compounds. The hydrogen peroxide IF coefficient was 3,3 at a dose $1 \cdot 10^{-4}$. Hydrogen peroxide is a widely used biocide for disinfection, sterilization, and antiseptis. H_2O_2 is considered environmentally friendly, because it can rapidly degrade into the innocuous products water and oxygen. H_2O_2 act as an oxidant by producing hydroxyl free radicals which attack essential cell components – lipids, proteins, and DNS.

Furazolidone is a synthetic nitrofurans with a broad spectrum of antimicrobial actions and has been widely used as bacteriostatic drug in both humans and animals. Although the genotoxic activity of 5-nitro-furans, including furazolidone has been documented, their mechanism of action still remains unclear. The genotoxic effects of furazolidone are assumed to be due mainly to the products of its oxido-reductive metabolism, formation of incomplete reduction products (hydrogen peroxide and hydroxide radicals). Furazolidone has carcinogenic effect on fishes. [12]

Our results suggest the necessity to follow strict rules while working with the tested chemicals.

Secinājumi

1. Ar rauga *Saccharomyces cerevisiae* mutāciju uzskaites metodi un *Escherichia coli* SOS hromotesta metodi analizēta dažu medicīnas preparātu un laboratorijās izmantojamo vielu genotoksicitāte.
2. Ar SOS hromotesta metodi genotoksiskā aktivitāte tika konstatēta krāsvielām akridīndzeltenais un akridīnoranžais, dezinfektoriem – formaldehīdam, kālija dihromātam, ūdeņraža peroksīdam, furazolidonam, antibiotiskajai vielai nalidiksīnskabei un anestēzijas līdzeklim ketalarām.

3. Ar rauga *Saccharomyces cerevisiae* mutāciju uzskaites metodi genotoksicitāte konstatēta formaldehīdam un uretānam.
4. Ar SOS hromotesta metodi netika konstatēta genotoksiskā aktivitāte acetnam, glutaraldehīdam, hloroformam un uretānam, kuram rauga mutāciju uzskaites sistēmā ir izteikta genotoksiskā aktivitāte.
5. Salīdzinot rezultātus, kas iegūti, dažādām vielām nosakot genotoksicitāti ar SOS hromotesta metodi, rauga *S.cerevisiae* metodi un literatūrā atrodamajām vēl citām metodēm, jāsecina, ka ar dažādām metodēm iegūtie rezultāti ne vienmēr sakrīt, kas apliecina, ka jāizmanto vairākas metodes, lai varētu pārliecinoši apstiprināt vai noliegt kādas vielas genotoksicitāti arī attiecībā uz cilvēku.

Literatūra

1. Douglas, M.P., Rogers, S.O. DNA damages caused by common cytological fixatives. *Mut. Res.* 1998, V 401, pp. 77-88.
2. Ptitsyn, L.R., Horneck, G., Komova, O., Kozubek, S., Krasavin, E., Boney, M., Rettberg, P. A biosensor for environmental genotoxin screening based on an SOS lux assay in recombinant *Escherichia coli* cells. *Appl. Env. Microbiology*, 1997. V 63, pp. 437-4384.
3. La Curieux, F., Marzin, D., Erb, F. Comparison of three short-term assays: results on seven chemicals. Potential contribution to the water genotoxicity. *Mut research*, 1993. V 319, pp. 223-236.
4. Speit, G., Merk, O. Evaluation of mutagenic effects of formaldehyde in vitro: detection of crosslinks and mutations in mouse lymphoma cells. *Mutagenesis*, 2002. V.17, p. 183-187.
5. Toma, S., Raipulis, J. The recombinogenic and mutagenic influence of formaldehyde on yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc. Latv. Acad. Sci*, 1996. V 50, p. 126-129.
6. Marrin, D., Olivier, P., Vorhi, H. Kinetic determination of enzymatic activity and modification of metabolic activation system in the SOS chromotest. *Mutation Res.*, 1986. V. 164, p. 353-359
7. Quillander, P., Hofnung, M. The SOS chromotest: areview. *Mutation Research*, 1993. V 297, pp. 235-248.
8. Schmidt, E., Goegelmann, W., Bauchinger, M. Formaldehyde induced cytotoxic, genotoxic and mutagenic response in human lymphocytes and *Salmonella typhimurium*. *Mutagenesis*, 1986. V. 1 p. 427-431.
9. Grafstrom, R.C., Hsu, C.J., Harris, C.C. Mutagenicity of formaldehyde in Chinese hamster lung fibroblasts: synergy with ionizing radiation and N-nitroso-N-methylurea. *Chem.-Biol. Interaction*, 1993. V. 86.
10. McLaughlin, J.K.. Formaldehyde and cancer: a critical review. *Int. Arch. Occup. Environ. Helth.*, 1994. V. 66, p. 295-301.
11. Svensson, K. Studies of to vinyl chloride, urethane, 1,2-dichlorourethane and propone with respect to metabolism, covalent binding to macromolecules and genotoxic risk. *Univ. Stocholm*, 1988. 69 p.
12. Auro, A., Sumano, H., Ocampo, L., Barragan, A. Evaluation of the carcinogenic effects of furazolidone and its metabolites in two fish species. *Pharmacogenomics*, 2004. V 4, pp. 24 -28.
13. Guzella, L., Monarea, S. Zani, C., Feretti, D. Zerbini I. et al. In vitro potential genotoxic effect of surface drinking water treated with chlorine and alternative disinfectants. *Mut Res.*, 2004. V 564, pp. 179-193.
14. McDonnell, G., Russell, A. Antiseptics and disinfectants: activity, action and resistance. *Clin Microbial. Review*, 1999. V 12, pp. 147-197.
15. Pohl, L.R.. Krishna, G. Deuterium isotope effect in bioactivation and hepatotoxicity of chloroform. *Life Science*, 1978. V 23, pp. 1067-1072.
16. Marczevska, J., Koziorowska, J. Effects of iron and copper ions on the inducibility of hydrogen peroxide in *E.coli*. *Acta Pol. Pharm*, 2000. V 57, pp. 49-52.
17. Trosko, J., Uphom, B.L. The emperor wears no clothes in the field of carcinogen risk assessment: ignored concepts in cancer risk assessment. *Mutagenesis*, 2005. V 20, pp. 81-92.