

ОЦЕНКА МУТАГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА ПОЛИФЕНОЛЬНОГО ЭКСТРАКТА ЯГОД ГОЛУБИКИ В ТЕСТЕ ЭЙМСА

Шульгау З.Т.¹, Сергазы Ш.Д.¹, Жуликеева А.М.¹, Даутов Ә.Е.¹,
Гуляев А.Е.¹, Коваленко Л.В.², Белоцерковцева Л.Д.²,
Кавушевская Н.С.², Логутенко А.В.²

¹Национальный центр биотехнологии,
Кургальжинское шоссе, 13/5, г. Нур-Султан, 010000, Казахстан
²Сургутский государственный университет,
пр. Ленина 1, г. Сургут, 628412, Россия
shulgau@biocenter.kz

АБСТРАКТ

Изучены мутагенные свойства полифенольного экстракта голубики в тесте на индукцию генных мутаций (тест Эймса) на четырех штаммах *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537. Ни для одного штамма *Salmonella typhimurium* не обнаружено статистически достоверного дозозависимого увеличения числа колоний ревертантов в присутствии исследуемого препарата в изученном диапазоне доз от 4,0 до 40,0 мг/мл относительно базового уровня спонтанных мутаций. Экстракт голубики в исследованном диапазоне доз в отношении штаммов TA98, TA100, TA1535, TA1537 *Salmonella typhimurium* мутагенной активностью не обладает.

Ключевые слова: полифенолы, экстракт голубики, тест Эймса, мутагенные свойства

ВВЕДЕНИЕ

Голубика обыкновенная (лат. *Vaccinium uliginosum*). Современные исследования в области пищевой химии и фармакологии показали, что ягоды голубики содержат ряд полезных для человеческого организма фитохимических веществ, таких как антоцианы и флавонолы [1]. Они оба являются важными фенольными соединениями, которые обладают многими физиологически активными функциями, такими как антирадикальное действие [2], антибактериальное и противогрибковое действие [3] и защита зрения [4]. Благодаря разнообразному здоровому использованию, голубика давно получила общественное признание и культивируется в массовых коммерческих масштабах во всем мире.

Несмотря на установленные и предполагаемые терапевтические эффекты полифенолов из ягод голубики, следует, безусловно, понимать, что некоторые полифенолы могут иметь мутагенные / генотоксические / эффекты, мешать биосинтезу гормонов щитовидной железы, оказывать гепатотоксические эффекты и провоцировать некоторые другие нежелательные эффекты [5-9]. Это обстоятельство, а именно существование вероятности проявления нежелательных эффектов при использовании полифенольных препаратов или БАД из голубики, как и из других источников полифенолов, заставляет уделять внимание токсикологическим исследованиям, включая оценку принципиально важного параметра мутагенности.

Целью настоящего исследования явилось изучение мутагенных свойств полифенольного экстракта голубики в тесте на индукцию генных мутаций (тест Эймса) на четырех штаммах *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537.

Материалы и методы исследования

Объект исследования - полифенольный экстракт ягод голубики. Ягоды голубики были собраны в летне-осенний период 2020 г в Сургутском районе Ханты-Мансийского автономного округа Тюменской области Российской Федерации. Начальная стадия обработки включала гомогенизацию ягод - 1 кг в 1 л воды при температуре 25°C -и фильтрацию через сита. Субстанцию экстрагировали с использованием этанола (0,4 л) при температуре 25°C. Этаноловый экстракт пропускали через фильтровальную бумагу и концентрировали при 35°C с использованием роторного испарителя, суспендировали в воде (30 мл), а затем суспендировали с н-гексаном (3×30 мл), чтобы удалить каротиноиды, жиры и воски, в последующем дополнительно разводили в 90 мл спирта для селективного извлечения флавонолов, антоцианов и проантоцианидинов. Водно-спиртовой экстракт концентрировали выпариванием в вакууме в роторном испарителе в течение 60 мин. с целью устранения спирта. Концентрацию полифенолов в образцах исследовали, используя коммерческий набор для определения концентрации полифенолов «Polyphenols folin-ciocalteu (ENOLOGY line by BioSystems, Spain)», в соответствии с инструкцией производителя реагента, по методу Singleton [10]. Уровень концентрации основных полифенольных компонентов в экстракте ягод голубики составил (): общее содержание полифенолов - $25,5 \pm 0,9$ mgGAE/ml (эквивалент галловой кислоты); флавоноидов - $10,2 \pm 0,2$ μ mol CE / ml (эквивалент кверцетина); антоцианов - $19,7 \pm 0,8$ mg C3G /ml (эквивалент цианидин 3-О-глюкозида).

Оценка мутагенных свойств экстракта голубики осуществлена в тесте Эймса на *Salmonella typhimurium* в микропланшетном формате (набор Ames MPF™ Penta I, Xenometrix, Switzerland) [11-15]. Штаммы бактерий, входящие в набор, соответствуют требованиям руководства по оценке химических соединений OECD 471.

Для оценки мутагенности в тесте Эймса использовали штаммы бактерий *Salmonella typhimurium*, в гистидиновый оперон которых внесены точковые мутации, ведущие к нарушению синтеза гистидина, и неспособности бактерий к росту на среде, не содержащей гистидин. Индукция в результате мутагенного воздействия обратных мутаций по типу замены пар оснований или сдвига рамки считывания в гене His этих тестерных штаммов приводит к реверсии прототрофности бактерий по этим аминокислотам и способности к росту на безгистидиновой среде. Тестерные штаммы подвергали воздействию различных концентраций исследуемых образцов и выращивали на среде, не содержащей гистидин. Мутагенный потенциал оценивали по индукции ревертантов от ауксотрофности по гистидину к прототрофности, способных к выживанию и росту на безгистидиновой среде. Штаммы *Salmonella typhimurium* TA100, TA1535 позволяют регистрировать индукцию мутаций по типу замены пар оснований, штаммы *Salmonella typhimurium* TA98 и TA1537 – мутаций по типу сдвига рамки считывания [9-12].

Около 10^7 бактерий *Salmonella typhimurium* подвергали воздействию тестируемого образца в 6-ти концентрациях (а также воздействию позитивного и негативного контролей) в течение 90 минут (время, достаточное для прохождения двух клеточных делений) в среде, содержащей гистидин. Через 90 минут

экспонированные культуры разводили в рН-индикаторной среде, не содержащей гистидин, и разливали по 48 лункам 384-луночной микротитровальной планшеты. В течение двух дней бактерии, претерпевшие реверсию к прототрофности по этим аминокислотам, формировали колонии. Продукты метаболизма бактерий снижали значение рН индикаторной среды, что приводило к изменению ее цвета в лунках. Для каждой концентрации тестируемого образца проводился подсчет количества лунок с ревертантными колониями, полученные показатели сравнивались с показателем для негативного (растворитель) контроля. Для статистической обработки данных каждая концентрация исследовалась в трех повторностях.

Диапазон исследованных доз экстракта голубики составил от 4,0 мг/мл до 40 мг/мл (4, 8, 10, 20, 30 и 40 мг/мл).

Расчеты производили с помощью таблицы калькуляций Excel (Ames_Calculation_Sheet_Ver2_03.xls). Рассчитывали следующие параметры: «среднее число позитивных лунок на концентрацию», которое составляет среднее значение числа позитивных лунок от трех повторностей на одну тестируемую концентрацию; «стандартное отклонение показателя числа позитивных лунок на концентрацию», которое представляет стандартное отклонение среднего значения числа позитивных лунок на тестируемую концентрацию; «кратность превышения относительно нулевой линии», которое определяется как отношение среднего значения числа позитивных лунок на тестируемую концентрацию к нулевой линии негативного (растворитель) контроля. Нулевая линия вычисляется сложением среднего значения числа позитивных лунок для негативного контроля и значения стандартного отклонения. Как правило, кратность превышения числа ревертантов относительно нулевой линии менее чем 2.0 не рассматривается как позитивный эффект, поскольку различия не считаются достоверными. Образец, для которого выявлена концентрационная зависимость эффекта или кратность превышения относительно нулевой линии составила более чем 2.0, классифицируется как мутаген. t-test Стьюдента (односторонний, непарный) использован для определения достоверности различий при уровне значимости $p=0,05$.

Увеличение количества ревертантных колоний под действием тестируемого образца по сравнению с негативным контролем свидетельствует о том, что образец проявляет мутагенную активность в тесте Ames MPF™ Penta I.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Диапазон исследованных доз экстракта голубики составил от 4,0 до 40,0 мг/мл (4; 8; 10; 20; 30 и 40 мг/мл).

Результаты исследования мутагенных свойств экстракта голубики в тесте Эймса в отношении *Salmonella typhimurium* TA98 представлены в таблице 1.

Таблица 1. Результаты исследования мутагенных свойств экстракта голубики в тесте Эймса в отношении *Salmonella typhimurium* TA98

Table 1. Results of the study of the blueberry extract mutagenic properties in the Ames test in relation to *Salmonella typhimurium* TA98

Концентрация экстракта голубики, мг/мл Concentration of blueberry extract, mg/ml	Число повторностей, n Number of iterations, n	Среднее количество позитивных лунок, m Average number of	Стандартное отклонение показателя числа позитивных лунок, SD Standard deviation of	Нулевая линия Baseline	Кратность превышения (нулевой линии) Excess multiplicity (of baseline)	t-test, p-значение (непарный, односторонний) t-test, p-value (unpaired,
---	--	---	---	---------------------------	---	--

		positive wells, m	the number of positive wells, SD			one-sided)
0	9	4,89	1,27	6,16		
4	3	5,00	1,73		0,81	0,4529
8	3	4,67	1,53		0,76	0,4032
10	3	4,67	1,15		0,76	0,3973
20	3	4,67	1,53		0,76	0,4032
30	3	4,67	1,53		0,76	0,4032
40	3	5,33	1,15		0,87	0,3023
Позитивный контроль (N ⁴ -аминоцитидин)	3	47,33	1,15			
Positive control (N ⁴ -amino cytidine)						

Из представленных результатов видно, что экстракт голубики в исследуемом диапазоне доз не способствует увеличению числа колоний ревертантов относительно базового уровня спонтанных мутаций. Среднее количество позитивных лунок не отличается от аналогичного значения в негативном контроле. Кратность превышения относительно нулевой линии в исследуемом диапазоне доз экстракта голубики составляет менее чем 2.0, поэтому различия не считаются достоверными (уровень значимости $p > 0,05$).

Результаты исследования мутагенных свойств экстракта голубики в тесте Эймса в отношении *Salmonella typhimurium* TA100 представлены в таблице 2.

Таблица 2. Результаты исследования мутагенных свойств экстракта голубики в тесте Эймса в отношении *Salmonella typhimurium* TA100

Table 2. Results of the study of the blueberry extract mutagenic properties in the Ames test in relation to *Salmonella typhimurium* TA100

Концентрация экстракта голубики, мг/мл Concentration of blueberry extract, mg/ml	Число повторностей, n Number of iterations, n	Среднее количество позитивных лунок, m Average number of positive wells, m	Стандартное отклонение показателя числа позитивных лунок, SD Standard deviation of the number of positive wells, SD	Нулевая линия Baseline	Кратность превышения (нулевой линии) Excess multiplicity (of baseline)	t-test, p-значение (непарный, односторонний) t-test, p-value (unpaired, one-sided)
0	9	4,22	1,39	5,62		
4	3	4,00	1,73		0,71	0,4125
8	3	4,33	0,58		0,77	0,4492
10	3	4,67	1,53		0,83	0,3246
20	3	4,67	0,58		0,83	0,3060
30	3	4,67	2,08		0,83	0,3387
40	3	4,33	2,08		0,77	0,4584
Позитивный контроль (N-оксид 4-нитрохинолин)	3	47,33	1,15			
Positive control (N ⁴ -amino						

cytidine)						
-----------	--	--	--	--	--	--

Из представленных результатов видно, что экстракт голубики в исследуемом диапазоне доз не способствует увеличению числа колоний ревертантов относительно базового уровня спонтанных мутаций. Среднее количество позитивных лунок не отличается от аналогичного значения в негативном контроле. Кратность превышения относительно нулевой линии в исследуемом диапазоне доз экстракта голубики составляет менее чем 2.0, поэтому различия не считаются достоверными (уровень значимости $p > 0,05$).

Результаты исследования мутагенных свойств экстракта голубики в тесте Эймса в отношении *Salmonella typhimurium* TA1535 представлены в таблице 3.

Таблица 3. Результаты исследования мутагенных свойств экстракта голубики в тесте Эймса в отношении *Salmonella typhimurium* TA1535

Table 3. Results of the study of the blueberry extract mutagenic properties in the Ames test in relation to *Salmonella typhimurium* TA1535

Концентрация экстракта голубики, мг/мл Concentration of blueberry extract, mg/ml	Число повторностей, n Number of iterations, n	Среднее количество позитивных лунок, m Average number of positive wells, m	Стандартное отклонение показателя числа позитивных лунок, SD Standard deviation of the number of positive wells, SD	Нулевая линия Baseline	Кратность превышения (нулевой линии) Excess multiplicity (of baseline)	t-test, p-значение (непарный, односторонний) t-test, p-value (unpaired, one-sided)
0	9	1,33	0,87	2,20		
4	3	1,33	1,53		0,61	0,5000
8	3	1,67	0,58		0,76	0,2770
10	3	1,00	1,00		0,45	0,2942
20	3	1,33	0,58		0,61	0,5000
30	3	1,00	1,00		0,45	0,2942
40	3	1,33	1,53		0,61	0,5000
Позитивный контроль (2-нитрофлюорен) Positive control (2-nitrofluorene)	3	47,67	0,58			

Из представленных результатов видно, что экстракт голубики в исследуемом диапазоне доз не способствует увеличению числа колоний ревертантов относительно базового уровня спонтанных мутаций. Среднее количество позитивных лунок не отличается от аналогичного значения в негативном контроле. Кратность превышения относительно нулевой линии в исследуемом диапазоне доз экстракта голубики составляет менее чем 2.0, поэтому различия не считаются достоверными (уровень значимости $p > 0,05$).

Результаты исследования мутагенных свойств экстракта голубики в тесте Эймса в отношении *Salmonella typhimurium* TA1537 представлены в таблице 4.

Таблица 4. Результаты исследования мутагенных свойств экстракта голубики в тесте Эймса в отношении *Salmonella typhimurium* TA1537

Table 4. Results of the study of the blueberry extract mutagenic properties in the Ames test in relation to *Salmonella typhimurium* TA1537

Концентрация экстракта голубики, мг/мл Concentration of blueberry extract, mg/ml	Число повторностей, n Number of iterations, n	Среднее количество позитивных лунок, m Average number of positive wells, m	Стандартное отклонение показателя числа позитивных лунок, SD Standard deviation of the number of positive wells, SD	Нулевая линия Baseline	Кратность превышения (нулевой линии) Excess multiplicity (of baseline)	t-test, p-значение (непарный, односторонний) t-test, p-value (unpaired, one-sided)
0	9	2,78	0,67	3,44		
4	3	2,67	0,58		0,77	0,4014
8	3	2,67	1,15		0,77	0,4185
10	3	3,33	0,58		0,97	0,1143
20	3	2,33	0,58		0,68	0,1645
30	3	3,00	0,00		0,87	0,2942
40	3	2,67	1,15		0,77	0,4185
Позитивный контроль (9-аминоакридин) Positive control (9-aminoacridine)	3	48,00	0,00			

Из представленных результатов видно, что экстракт голубики в исследуемом диапазоне доз не способствует увеличению числа колоний ревертантов относительно базового уровня спонтанных мутаций. Среднее количество позитивных лунок во всех исследованных концентрациях экстракта голубики не отличается от аналогичного значения в негативном контроле. Кратность превышения относительно нулевой линии в исследуемом диапазоне доз экстракта голубики составляет менее чем 2.0, поэтому различия не считаются достоверными (уровень значимости $p > 0,05$).

ВЫВОДЫ

Изучены мутагенные свойства экстракта голубики в тесте Эймса в отношении штаммов *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537. Ни для одного штамма *Salmonella typhimurium* не обнаружено статистически достоверного дозозависимого увеличения числа колоний ревертантов в присутствии исследуемого препарата в изученном диапазоне доз от 4,0 до 40,0 мг/мл относительно базового уровня спонтанных мутаций. Таким образом, на основании отрицательного ответа, полученного в тесте Эймса, можно сделать вывод, что экстракт голубики в исследованном диапазоне доз от 4,0 до 40,0 мг/мл (4; 8; 10; 20; 30 и 40 мг/мл) в отношении штаммов TA98, TA100, TA1535, TA1537 *Salmonella typhimurium* мутагенной активностью не обладает. Следует указать, что тест Эймса выявляет и измеряет мутации, возникающие в бактериальном геноме при воздействии тестируемого вещества, но кроме того, повреждение ДНК в этом тесте можно рассматривать как суррогатную конечную точку канцерогенности [16-17], поскольку последняя возникает у млекопитающих в результате накопления серии мутаций.

С помощью теста Эймса мы показали, что комплекс полифенолов в экстракте ягод голубики не является мутагенным и потенциально канцерогенным. Наши результаты подтверждают безопасность экстракта голубики и доказывают, что полифенолы голубики при использовании их в виде БАДа, не обладают генотоксическим потенциалом.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках темы «Влияние генетического полиморфизма и эндотелий-опосредованных факторов на формирование тяжелых плацентарных нарушений при ранней и поздней преэклампсии. Патогенетические подходы к превентивной и персонифицированной терапии», поддержанной грантом Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) № 18-415-860006.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lähti A.K., Jaakola L., Riihinen K.R., Kainulainen P.S. Anthocyanin and Flavonol variation in Bog Bilberries (*Vaccinium uliginosum* L.) in Finland//*Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2010. - Vol. 58, № 1.- P. 427-433.
2. Bonfigli M., Godoy E., Reinheimer M.A., Scenna N.J. Comparison between conventional and ultrasound-assisted techniques for extraction of anthocyanins from grape pomace. Experimental results and mathematical modeling//*Journal of Food Engineering*. – 2017.- Vol. 207.- P. 56-72.
3. Duman A., Ozgen M., Dayisoğlu K.S., Erbil N., Durgac C. Antimicrobial activity of six pomegranate (*punica granatum* L.) varieties and their relation to some of their pomological and phytonutrient characteristics//*Molecules*.- 2009.- Vol. 14, №. 5.- P. 1808-1817.
4. Giampieri F., Alvarez-Suarez J.M., Battino M. Strawberry and human Health: Effects Beyond antioxidant activity//*Journal of Agricultural and Food Chemistry*.- 2014.- Vol. 62, № 18. - P. 3867-3876.
5. Hu J., Webster D., Cao J., Shao A. The safety of green tea and green tea extract consumption in adults – results of a systematic review// *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. - 2018. - Vol. 95. - P. 412- 433.
6. Lee S., Song P.H., Lee Y.J., Ku S.-K., Song C.-H. Acute and subchronic oral toxicity of fermented green tea with *aquilariae lignum* in rodents//*Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.- 2019.- Vol. 2019.- P. 1-11.
7. Mennen L.I., Walker R., Bennetau-Pelissero C., Scalbert A. Risks and safety of polyphenol consumption// *The American Journal of Clinical Nutrition*.- 2005.- Vol. 81.- P. 326S-329S.
8. Teschke R., Zhang L., Melzer L., Schulze J., Eickhoff A. Green tea extract and the risk of drug-induced liver injury//*Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*.- 2014.- Vol. 10.- P. 1663-1676.
9. Filippini T., Malavolti M., Borrelli F., Izzo A.A., Fairweather-Tait S.J., Horneber M., Vinceti M. Green tea (*Camellia sinensis*) for the prevention of cancer// *Cochrane Database of Systematic Reviews*.- 2020.- Vol. 1.- P. 1-274.
10. Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventós R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent// *Methods in Enzymology*.- 1999.- Vol. 299.- P. 152-178.
11. Ames B.N., McCann J., Yamasaki E. Methods for Detecting Carcinogens and Mutagens with the *Salmonella/Mammalian-Microsome Mutagenicity Test*//

Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects.- 1975.- Vol. 31.- P.347-364.

12. Maron D.M., Ames B.N. Revised Methods for the Salmonella Mutagenicity Test//Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects. - 1983.- Vol. 113.- P.173-215.

13. Gatehouse D., Haworth S., Cebula T., Gocke E., Kier L., Matsushima T., Melcion C., Nohmi T., Venitt S., Zeiger E. Recommendations for the Performance of Bacterial Mutation Assays//Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects.- 1994.- Vol. 312.- P. 217-233.

14. Flückiger-Isler S., Kamber M. Direct comparison of the Ames microplate format (MPF) test in liquid medium with the standard Ames pre-incubation assay on agar plates by use of equivocal to weakly positive test compounds//Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects.- 2012.- Vol. 747, № 1.- P. 36-45.

15. Kamber M., Flückiger-Isler S., Engelhardt G., Jaech R., Zeiger E. Comparison of the Ames II and traditional Ames test responses with respect to mutagenicity, strain specificities, need for metabolism and correlation with rodent carcinogenicity// Mutagenesis.- 2009.- Vol. 24, №4, P. 359-366.

16. Zeiger E. The test that changed the world: The Ames test and the regulation of chemicals//Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis.- 2019.- Vol. 841.- P. 43–48.

17. Vijay U., Gupta S., Mathur P., Suravajhala P., Bhatnagar P. Microbial Mutagenicity Assay: Ames Test // Bio-Protocol. – 2018. – Vol. 8, №16. – P. 1-15.

REFERENCES

1. Lätti A.K., Jaakola L., Riihinen K.R., Kainulainen P.S. Anthocyanin and flavonol variation in bog bilberries (*Vaccinium uliginosum* L.) in Finland. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, vol. 58, no. 1, pp. 427–433. 20000402, <https://doi.org/10.1021/jf903033m>

2. Bonfigli M., Godoy E., Reinheimer M.A., Scenna N.J. Comparison between conventional and ultrasound-assisted techniques for extraction of anthocyanins from grape pomace. Experimental results and mathematical modeling. *Journal of Food Engineering*, 2017, vol. 207, pp. 56–72. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.03.011>

3. Duman A.D., Ozgen M., Dayisoğlu K.S., Erbil N., Durgac C. Antimicrobial activity of six pomegranate (*Punica granatum* L.) varieties and their relation to some of their pomological and phytonutrient characteristics. *Molecules*, 2009, vol. 14, pp. 1808–1817. 19471201, <https://doi.org/10.3390/molecules14051808>

4. Giampieri F., Alvarez-Suarez J.M., Battino M. Strawberry and human health: Effects beyond antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, vol. 62, pp. 3867–3876. 24450925, <https://doi.org/10.1021/jf405455n>

5. Hu J., Webster D., Cao J., Shao A. The safety of green tea and green tea extract consumption in adults—results of a systematic review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2018, vol. 95, pp. 412–433. 29580974, <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2018.03.019>

6. Lee S., Song P.H., Lee Y.J., Ku S.-K., Song C.-H. Acute and subchronic oral toxicity of fermented green tea with aquilariae lignum in rodents. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, vol. 2019, pp. 1-11. 31662782, <https://doi.org/10.1155/2019/8721858>

7. Mennen L.I., Walker R., Bennetau-Pelissero C., Scalbert A. Risks and safety of polyphenol consumption. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2005, vol. 81, pp. 326S–329S. 15640498, <https://doi.org/10.1093/ajcn/81.1.326S>
8. Teschke R., Zhang L., Melzer L., Schulze J., Eickhoff A. Green tea extract and the risk of drug-induced liver injury. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 2014, vol. 10, pp. 1663–1676. 25316200, <https://doi.org/10.1517/17425255.2014.971011>
9. Filippini T., Malavolti M., Borrelli F., Izzo A.A., Fairweather-Tait S.J., Horneber M., Vinceti M. Green tea (*Camellia sinensis*) for the prevention of cancer. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2020, vol. 1, pp. 1-274. 19588362, <https://doi.org/10.1002/14651858.CD005004.pub2>
10. Singleton V.L, Orthofer R., Lamuela-Raventós R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 1999, vol. 299, pp. 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
11. Ames B.N., McCann J., Yamasaki E. Methods for Detecting Carcinogens and Mutagens with the Salmonella/Mammalian-Microsome Mutagenicity. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 1975, vol. 31, pp. 347-364. 768755, [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(75\)90046-1](https://doi.org/10.1016/0165-1161(75)90046-1)
12. Maron D.M., Ames B.N. Revised Methods for the Salmonella Mutagenicity Test. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 1983, vol. 113, pp. 173-215. 6341825, [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(83\)90010-9](https://doi.org/10.1016/0165-1161(83)90010-9)
13. Gatehouse D., Haworth S., Cebula T., Gocke E., Kier L., Matsushima T., Melcion C., Nohmi T., Venitt S., Zeiger E. Recommendations for the Performance of Bacterial Mutation Assays. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 1994, vol. 312, pp. 217-233. 7514736, [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(94\)90037-X](https://doi.org/10.1016/0165-1161(94)90037-X)
14. Flückiger-Isler S., Kamber M. Direct comparison of the Ames microplate format (MPF) test in liquid medium with the standard Ames pre-incubation assay on agar plates by use of equivocal to weakly positive test compounds. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 2012, vol. 747, no. 1, pp. 36-45. 22579797, <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2012.03.014>
15. Kamber M., Flückiger-Isler S., Engelhardt G., Jaech R., Zeiger E. Comparison of the Ames II and traditional Ames test responses with respect to mutagenicity, strain specificities, need for metabolism and correlation with rodent carcinogenicity. *Mutagenesis*, 2009, vol. 24, no. 4, pp. 359-366. 19447896, <https://doi.org/10.1093/mutage/gep017>
16. Zeiger E. The test that changed the world: The Ames test and the regulation of chemicals. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 2019, vol. 841, pp. 43–48. 31138410, <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2019.05.007>
17. Vijay U., Gupta S., Mathur P., Suravajhala P., Bhatnagar P. Microbial Mutagenicity Assay: Ames Test. *Bio-Protocol*, 2018, vol. 8, no. 16, pp. 1-15. 34179285, <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.2763>

КӨКЖИДЕК ЖИДЕКТЕРІНІҢ ПОЛИФЕНОЛДЫ СЫҒЫНДЫСЫНЫҢ МУТАГЕНДІК ӘЛЕУЕТІ ЭЙМС ТЕСТІНДЕ БАҒАЛАНДЫ

Шульгау З.Т.¹, Серғазы Ш.Д.¹, Жуликеева А.М.¹, Даутов Ә.Е.¹,
Гуляев А.Е.¹, Коваленко Л.В.², Белоцерковцева Л.Д.²,
Кавушевская Н.С.², Логутенко А.В.²

¹Ұлттық биотехнология орталығы,
Қорғалжын тасжолы, 13/5, Нұр-Сұлтан қ., 010000, Қазақстан
²Сургут мемлекеттік университеті,
Ленин даңғ. 1, Сургут қ., 628412, Ресей
shulgau@biocenter.kz

ТҮЙІН

Salmonella typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537 төрт штамдарында гендік мутацияларды индукциялауға қатысты тестінде (Эймс тесті) көкжидектің полифенолды сығындысының мутагендік қасиеттері зерттелінді. Бірде бір *Salmonella typhimurium* штаммы үшін тосыннан болатын мутациялардың негізгі деңгейімен салыстырғанда, 4,0 тен 40,0 мг/мл - ге дейінгі зерттелген дозалар диапазонында зерттелген препарат болған кезде ревертанттар колонийлар қатарының статистика жағынан нақты дозаға тәуелділігінің артуы байқалмады. Көкжидек сығындысының *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 штамдарына қатысты зерттелген дозалар диапазонында мутагендік белсенділігі байқалмады.

Негізгі сөздер: полифенолдар, көкжидек сығындысы, Эймс тесті, мутагендік қасиеттер.

Evaluation Of The Mutagenic Potential Of The Polyphenol Extract From Blueberries In The Ames Test

Shulgau Z.T.¹, Sergazy S.D.¹, Zhulikeeva A.M.¹, Dautov A.Y.¹, Gulyayev
A.Y.¹, Kovalenko L.V.², Belotserkovtseva L.D.², Kavushevskaya N.S.²,
Logutenko A.V.²

¹National Center for Biotechnology,
13/5, Kurgalzhynskoye road, Nur-Sultan, 010000, Kazakhstan
²Surgut State University,
14, Energetikov st., Surgut, 628412, Russia
shulgau@biocenter.kz

ABSTRACT

In this research, mutagenic properties of blueberry polyphenol extract were studied in gene mutation induction test (Ames test) on four strains of *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537. None of the strains of *Salmonella typhimurium* showed statistically reliable dose-dependent increase in number of revertant colonies in the presence of investigated drug in the studied dose range from 4,0 to 40,0 mg/ml relative to baseline of spontaneous mutations. The blueberry extract does not have any mutagenic activity in the researched dose

range in relation to TA98, TA100, TA1535, TA1537 strains of *Salmonella typhimurium*.

Key words: polyphenols, blueberry extract, Ames test, mutagenic properties