FARMACEUTICKÁ VÝROBA A JEJÍ VLIV NA ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ

Zuzana Tognerová
Ostravská univerzita v Ostravě, fakulta přírodovědecká, katedra biologie a ekologie
r10089@student.osu.cz

Abstrakt

Mnohé látky vnímané veřejností jako neškodné mohou být za určitých podmínek rizikové pro člověka nebo životní prostředí. Při dlouhodobém užívání se mohou akumulovat v organismu a působit toxicky nebo se jako produkty metabolismu dostávat do prostředí, kde dochází ke zvyšování jejich koncentrace [1]. V současné době přibývá množství léčiv, která jsou užívána lidmi i zvířaty. Farmaka užívaná lidmi se dostávají do povrchových vod, kde ovlivňují vodní organismy, farmaka veterinární se hnojením dostávají na pole, kde působí na půdní organismy, mohou kontaminovat povrchové i podzemní vody, sedimenty, mořskou a pitnou vodu. Znečištění životního prostředí způsobené zvýšeným výskytem léčiv je celosvětovým problémem, zejména vzhledem k omezené možnosti odbouratelnosti těchto látek na čistírnách odpadních vod [2,3].

Mezi nejsledovanější účinky látek patří genotoxicita, jelikož účinky genotoxických látek mohou být vyvolány i při velmi nízkých koncentracích a mohou se projevit až za delší časové období [4,5].

Nejstarším, základním, velmi často využívaným testem genotoxicity je Amesův test. Detekčním organismem jsou mutantní bakteriální kmeny *Salmonella typhimurium* obsahující deficitní gen pro syntézu histidinu a nejsou proto schopny růst tam kde histidin není externě dodáván. Pokud je testovaná látka mutagenní, dojde ke zpětné mutaci v histidinovém operonu, a kmen roste i v prostředí, kde histidin není dodáván. Klasický test je prováděn na agarových plotnách, na kterých se po 48 hodinové inkubaci vyhodnocuje počet kolonií. Modifikovaná miniaturizovaná varianta testu probíhá na mikrotitračních destičkách v tekutém médiu obsahujícím bromkresolový purpur jako indikátor změny hodnoty pH. Pozorovaná změna barvy z fialové na žlutou je indikátorem mutagenity testovaných látek. Konečný výsledek dostaneme porovnáním počtu pozitivních žlutých jamek negativní kontroly s množstvím pozitivních žlutých jamek na destičkách s testovaným vzorkem [5]. Součástí testu je kontrola sterility (blank), negativní kontrola (úroveň spontánních revertant) a pozitivní kontrola (použití standardního mutagenu pro daný kmen) [6,7].

Cílem práce bylo zhodnotit mutagenní účinek dvou látek, genisteinu a quercetinu, které jsou využívány ve farmaceutickém průmyslu, pomocí miniaturizovaného Amesova testu na bakteriálních kmenech *Salmonella typhimurium* TA 98 a TA 100 detekující posunové a záměnové mutace.

Výsledky sledování jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1. Počet pozitivních jamek pro genistein, quercetin, 4-NPDA a NaN_3 testované na kmenech TA 98 a TA 100.

	Genistein		Quercetin		4-NPDA	NaN_3
Zkumavka	Počet pozitivních jamek TA 98	Počet pozitivních jamek TA 100	Počet pozitivních jamek TA 98	Počet pozitivních jamek TA 100	Počet pozitivních jamek TA 98	Počet pozitivních jamek TA 100
Blank	0	0	0	0	0	-
Kontrola	7	20	3	15	3	-
c = 0,1 µg/ml	7	16	1	19	-	-
c = 0,5 µg/ml	-	-	-	-	-	31
c = 1 µg/ml	7	15	6	19	-	-
c = 2,5 µg/ml	-	-	-	-	-	60
c = 5 µg/ml	-	-	-	-	-	72
c = 7,5 µg/ml	-	-	-	-	-	96
c = 10 µg/ml	9	16	5	18	-	94

c = 80 µg/ml	-	-	-	-	66	-
c = 100 µg/ml	7	21	10	19	85	-
c = 160 µg/ml	-	-	-	-	88	-
c = 200 µg/ml	-	-	-	-	92	-
c = 250 µg/ml	-	-	-	-	94	-
c = 1000 µg/ml	9	14	12	30	-	-
c = 1500 µg/ml	1	12	11	17	-	-
c = 2000 µg/ml	6	10	12	23	-	-
c = 2500 µg/ml	3	15	12	31	-	-

Výsledky testu nepotvrdily genotoxicitu genisteinu pro žádný z testovaných kmenů. U quercetinu se objevil pozitivní výsledek pro koncentraci >10 µg/ml pro kmen TA 98. Pro kmen TA 100 se objevily ojedinělé pozitivní výsledky nevykazující žádnou závislost na koncentraci quercetinu, pozdější opakování testu pozitivitu nepotvrdilo. Pozitivní kontrola s použitím standardů NaN_3 a 4-NPDA byla dle očekávání pozitivní a potvrdila validitu testu.

Klíčová slova: *Amesův miniaturizovaný test, Salmonella typhimurium, genotoxicita, genistein, quercetin*.

Poděkování
Ráda bych na tomto místě poděkovala své vedoucí Mgr. Haně Sezimové, Ph.D za odborné rady a vedení, dík patří také Mgr. Zuzaně Jaskóové za podporu při přípravě vzorků a materiálu potřebného k provedení testu.

Literatura

[1.]KOČÍ V., MOCOVÁ K.(2009): *Ekotoxikologie pro chemiky.* Praha: VSCHT
[2.]REEMTSMA T., JEKEL M. (2006) :*Organic Pollutants in the Water Cycle*,WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA, Weinheim, ISBN: 3-527-31297-8
[3.]JJEMBA P.K.(2008): *Pharma-ecology, The Occurrence and Fate of Pharmaceuticals and Personal Care products in the Environment*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey 2008, ISBN: 978-0-470-04630-2
[4.]HOLOUBEK I. ET AL. (2004): *Využití testů genotoxicity pro kontrolu kontaminace zemědělských produktů, potravin a vzorků životního prostředí.* Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha
[5.] SEZIMOVÁ H. (2006): *Hodnocení genotoxických účinků kontaminant životního prostředí.* Vysoká škola Báňská – Technická univerzita Ostrava, Hornicko – geologická fakulta, Institut enviromentálního inženýrství, Ostrava. ISBN 80-248-1041-7.
[6.]AMES B.N.,MCCANN J., YAMASAKI E (1975**):** *Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test.* Mutation Research, Vol. 31, pp. 347-364.
[7.] RAO S.S., LIFSHITZ R. (1995): *The Muta-ChromoPlate Method for measuring mutagenicity of enviromental samples and pure chemicals, Enviromental Toxicology and Water Quality*: An International Journal, Vol. 10, pp. 307 – 313.