

О.І. ЯЛОВЕНКО, Н.В. ОСТАНИНА, О.М. ДУГАН

Інститут гігієни і медичної екології ім. О.М. Марзєєва,
Національний технічний університет України «КПІ», Київ

ВІДТІНКОВІ БАЛЬЗАМИ В СИСТЕМІ ЕТАПНОГО ТЕСТУВАННЯ ЇХ ПОТЕНЦІАЛЬНОЇ МУТАГЕННОЇ ДІЇ НА ГЕНЕТИЧНО ЗМІНЕНИХ МІКРООРГАНІЗМАХ



За допомогою напівкількісної методики Еймса з метаболічною активацією постмітохондріальною фракцією гомогенату печінки щурів, передоброблених фенобарбіталом натрію (для індукції монооксигеназ змішаної функції), було вивчено потенціальну мутагенну дію 17 відтінкових бальзамів, що використовуються як косметичні засоби для тимчасового фарбування волосся. Вони включають розчинні у воді барвники і пігменти, які при застосуванні розміщуються на поверхні волосся. Таке фарбування може бути ліквідовано поодиноким ефективним промиванням волосся шампунем. Показано наявність потенціальної мутагенної активності у майже всіх досліджуваних відтінкових бальзамів. Найбільш активними індукторами генних мутацій виявилися три засоби — червоне дерево, каштановий і чорний, які показали ефект «середньої» сили за нашою класифікацією. Один з відтінкових бальзамів — бургунд — виявився генетично інертним. Решта препаратів показали мутагенні ефекти «слабкої» сили з кратністю перевищення контрольних значень від 5 до 2 разів.

© О.І. ЯЛОВЕНКО, Н.В. ОСТАНИНА, О.М. ДУГАН, 2005

Вступ. На сьогоднішній день в науковій літературі, яка стосується токсичності косметичних засобів, однозначної думки не існує. Сенсаційні слухи, що з'являються час від часу, про канцерогенність та мутагенність дезодорантів, фарб для волосся, у свій час були спростовані Американським онкологічним товариством (American Cancer Society) і Національним онкологічним інститутом (National Cancer Institute) [1].

Ще однією проблемою безпеки косметичних засобів стали численні публікації наукових даних про те, що лаурілсульфат натрію і лауретсульфат натрію — інгредієнти миючих і косметичних засобів — є шкідливими для шкіри, волосся і здоров'я в цілому [2, 3]. Ця інформація частково була підтверджена Cosmetic Ingredients Review (організацією, що займається перевіркою безпеки косметичних інгредієнтів). Дійсно, лаурілсульфат натрію і родинний йому лаурілсульфат амонію в концентрації 2 % викликають подразнення шкіри у піддослідних тварин і деяких людей, причому подразнююча дія цих інгредієнтів підвищується при збільшенні їх концентрації і часу контакту зі шкірою. Експериментально доведено, що молекули лаурілсульфату натрію проникають в епідерміс, відкладаються в його ліпідах, утворюючи ефект депо, пошкоджують корнеоцити [3]. Це призводить до накопичення цих речовин у клітках шкіри та міжклітинному просторі, у результаті чого порушується процес формування захисного бар'єра епідерміса. Тому тривале використання миючих засобів, що містять лаурілсульфат натрію чи амонію, може привести до розвитку сухості шкіри, її лущенню, випаданню волосся, появі комедонів, спровокувати дерматити. Однак, за даними Cosmetic Ingredients Review, у цих речовин, навіть у порівняно високій концентрації не виявлені канцерогенні властивості [4].

Прямо протилежна інформація про мутагенні властивості лаурілсульфату натрію була опублікована в різний час і різними авторами, починаючи з 1973 р. [5]. Зведення про мутагенність цієї речовини також були опубліковані і в наступні роки — 1976 р. [6, 7], 1982 р. [8], 1983 р. [9], 1985 р. [10], 1994 р. [11].

Неоднозначною є думка дослідників і про мутагенність та канцерогенність фарб для волосся. Вперше інформація про канцерогенність фарб для волосся, що містять похідні нафти, з'явилась в 1978 р. [12]. Пізніше у 1982 р. дос-

лідники з Каліфорнійського університету повідомили про факти підвищеної частоти зустрічальності мієломи (лейкоз з переважною поразкою системи плазматичних кліток кісткового мозку, кіст, порушенням білкового обміну, поразкою бруньок) серед перукарів порівняно з іншими людьми. Було висловлене припущення, що причинним фактором мієлом могли бути фарби для волосся, шампуні, засоби для хімічної завивки чи лаки [13].

Ще одним підтвердженням підозри потенційних мутагенних і канцерогенних властивостей в косметичних засобах було повідомлення у 1994 р. Американським онкологічним товариством даних про те, що серед жінок, які протягом 20 років фарбували волосся у чорний колір, захворюваність лімфомою (пухлини лімфатичних вузлів чи лімфатичних тканин органів) виявилася в 4 рази вище середньої [1, 13]. Наступні дослідження (1997—1998 рр.) причинно-наслідкових зв'язків між фарбуванням волосся і захворюваністю раком не знайшли [1]. Проте, в останні роки потік наукової інформації про те, що в жінок-перукарів частіше, ніж у представниць інших, буває рак грудей, поступово збільшується, однак без прив'язки до конкретних косметичних засобів [1].

Широке повсякденне застосування споживачами косметичних засобів, розширення діапазону їх дії на шкіру та її придатки завдяки використанню інгредієнтів з новими властивостями, що час від часу виявляються в косметиці і, за певних умов, можуть викликати рак у піддослідних тварин; накопичення експериментальних даних щодо генетичної, канцерогенної й алергенної дії окремих інгредієнтів призводять до необхідності більш детального вивчення деяких косметичних засобів у системі всебічної оцінки їх токсикологічних характеристик. Причому, важливим є всебічне вивчення токсичності саме косметичного засобу, незважаючи на наявність (або відсутність) в його складі речовин з відомими мутагенними і канцерогенними властивостями. Прикладом може служити поява в косметичному засобі нітросоамінів. Це обумовлено тим, що деякі косметичні інгредієнти містять аміни (звичайно, це можуть бути ПАР, різні емульгатори) або нітросполуки (консервант 2-бromo-2-нітропропан-1,3-діол). У разі наявності нітросполук в одній рецептурі з амінами вони ство-

рюють нітросоаміни — речовини-мутагени і канцерогени [14].

Мета досліджень — вивчення потенційної мутагенної активності деяких відтінкових бальзамів у системі етапної оцінки їх генетичної безпеки для людини.

Матеріали і методи. За призначенням фарби для волосся належать до трьох категорій: для тимчасового фарбування, для напівстійкого та перманентного фарбування. У наших дослідженнях використовували фарби для тимчасового фарбування, тобто відтінкові. Вони включають кислотні фарбники і пігменти, які розчинні у воді, при застосуванні розміщуються на поверхні волосся. Таке фарбування може бути ліквідовано поодиноким ефективним промиванням волосся шампунем.

Всього було вивчено потенційну мутагенність 17 найменувань відтінкових бальзамів. За фізико-хімічними властивостями вони є рідинами густої консистенції, добре розчинені в дистильованій воді і вивчалися у наступних розведеннях: нативні (тобто нерозведені), розведені в 2, 5 і 10 разів. До складу досліджуваних речовин обов'язково входили такі інгредієнти, як синтанол АЦСЕ-12 або синтанол АЛМ-10, емульгатор, вітамін Е, технічний формалін, відповідна ароматична композиція, трилон Б, гліцерин і різні барвники в різних процентних відношеннях. З літературних даних відомо, що деякі з цих речовин є мутагенами різної сили, які були виявлені на різних тест-системах.

Як тест-об'єкт було використано гістидинзалежні штами *Salmonella typhimurium*, що здатні рееструвати генні мутації за двома механізмами мутагенної дії: заміна пари нуклеотидних основ (ТА 100) і зсув рамки зчитування генетичного коду (ТА 98). Дані штами були сконструйовані за допомогою генно-інженерних методів Еймсом і співавт. [15, 16]. Для виявлення мутагенності імовірних метаболітів досліджуваних речовин використовували систему метаболічної активації, яка була запропонована Маллінгом і співавт. [17]. Мутагенні ефекти враховували за 48 год культивування мікроорганізмів у термостаті при 37 °С. Оцінку ефектів здійснювали згідно з запропонованою нами методикою [18, 19].

Результати досліджень та їх обговорення. Узагальнені експериментальні дані щодо по-

тенційної мутагенності відтінкових бальзамів представлені в таблиці.

Аналіз даних свідчить про наявність потенціальної мутагенної активності в майже всіх досліджуваних відтінкових бальзамів. Так, найбільш активними індукторами генних мутацій у наших дослідях виявилися три засоби — червоне дерево, каштановий і чорний, які показали ефект «середньої» сили за нашою класифікацією [18, 19]. Це можна пояснити вмістом у складі цих композицій мутагенних інгредієнтів у досить високих відсоткових відношеннях: для бальзаму червоне дерево і каштановий — це 2-нітро-1,4-фенілендіамін: масова частка відповідно 0,8 і 0,4 %, що відповідає майже максимальній дозі 800 і 400 мкг у пробі в класичних експериментах з використанням мікробних тест-систем; для бальзаму чорний це наявність двох барвників — основний синій і дисперсний чорний (масова частка відповідно 1 і 0,8 %).

З цих трьох бальзамів максимальний мутагенний ефект показав бальзам червоне дерево, для якого було виявлено перевищення кількості ревертантів у досліді відносно контролю в 17,6 раза у варіантах з метаболічною актива-

цією, що вказує на наявність у цій композиції «непрямих» мутагенів, здатних індукувати ефекти за механізмом дії за типом зсуву рамки зчитування генетичного коду (рис. 1). Бальзами чорний і каштановий також виявилися досить активними в генетичному відношенні, причому ефект метаболічної активації (тобто в присутності варіанта досліду МС+) в незначній мірі спостерігався для бальзаму каштановий. Зниження ступеня мутагенного ефекту при розведенні препаратів і залежність ефекту від дози речовини свідчать про досить стійкі їх мутагенні властивості. Це в повній мірі стосується і тестованих бальзамів.

Перелічені три бальзами виявилися мутагенними і на тест-штамі ТА100 (рис. 2) з максимальним ефектом для чорного у варіанті досліду з метаболічною активацією (перевищення контрольних значень у 10 разів).

Слід зазначити, що препарати, які показали мутагенну активність «слабкої» сили, також були неоднакові за ступенем виразності ефектів. Так, бальзами русявий і коричневий показали ефект, який вважається проміжним між «слабким» і «середнім» (рис. 3, № 4, 5), тобто, крат-

Потенціальна мутагенна активність деяких відтінкових бальзамів у тесті Еймса з метаболічною активацією

Відтінковий бальзам	Наявність мутагенного ефекту			
	ТА98		ТА100	
	МС+	МС-	МС+	МС-
Рубіновий	+*	+	±**	-***
Сливовий	+	+	-	-
Коричневий	+±	+	+	+
Червоне дерево	+ + ****	+	+	-
Русявий	+	+ ±	+	-
Гранатовий	+	+	+	+
Каштановий	+ +	+	+	+
Баклажан	+	+	±	-
Рожевий	+	+	-	-
Вишневий	+	+	-	-
Вогненний	+	+	+	-
Махагон	+	-	-	-
Чорний	+ +	+ +	+ +	+
Бургунд	-	-	-	-
Бордо	+	+	+	-
Божоле	+	-	-	-
Червоне золото	+	+	-	-

Примітка. МС+ — варіант досліду з метаболічною активацією; МС- — варіант досліду без активації. *Мутагенна активність слабкої сили. **Граничний мутагенний ефект. ***Відсутність мутагенного ефекту. ****Мутагенний ефект «середньої» сили.

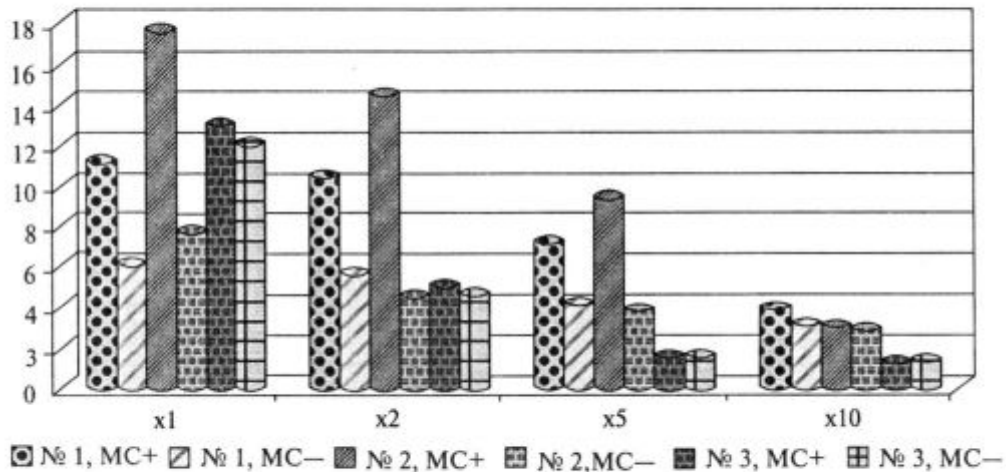


Рис. 1. Мутагенна активність відтінкових бальзамів: каштановий (№ 1), червоне дерево (№ 2) і чорний (№ 3) в тесті Еймса (ТА98): по вертикалі — Хд./Хк.; по горизонталі — кратність розведення (тут і на рис. 2 та 3)

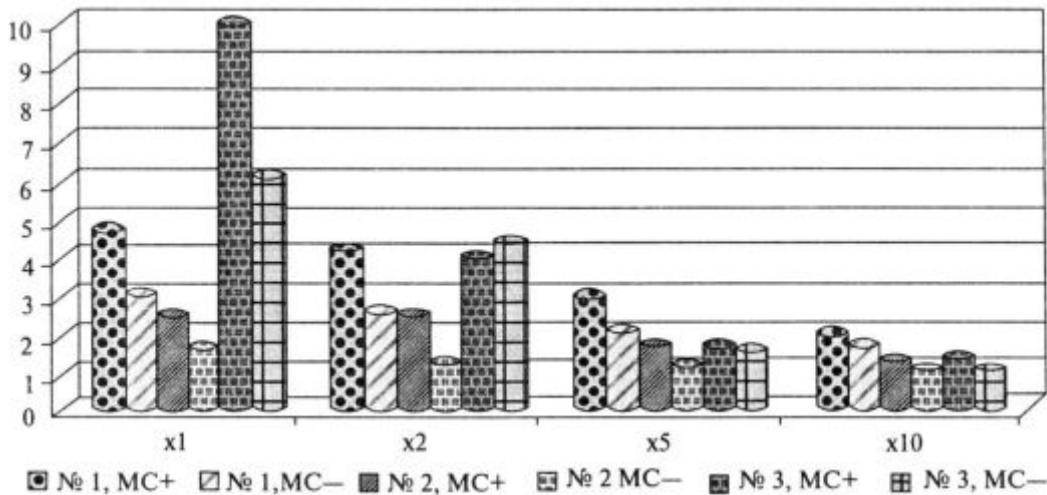


Рис. 2. Мутагенна активність відтінкових бальзамів: каштановий (№ 1), червоне дерево (№ 2) і чорний (№ 3) в тесті Еймса (ТА100)

ність перевищення кількості ревертантів у досліді відносно контролю у варіантах експерименту MC+ і MC- наближувалась до 10 з чіткою залежністю ефекту від ступеня розведення бальзаму. Найбільш типовими мутагенами «слабкої» сили в наших дослідях є бальзами вишневий (рис. 3, № 6), ефект якого в значній мірі обумовлюється в основному метаболічною активацією з перевищенням кількості ревертантів у 7,4 раза.

Один з відтінкових бальзамів — бургунд — виявився генетично інертним по відношенню до використаних нами тест-організмів як з ме-

таболічною активацією, так і без активації. Це свідчить про те, що як сам бальзам, так і його імовірні метаболіти не містять (або містять у невеликих кількостях) мутагенні речовини.

Решта препаратів показали мутагенні ефекти «слабкої» сили з кратністю перевищення контрольних значень від 5 до 2 разів у різних варіантах досліду: у присутності або відсутності активації, на тест-штамах TA98 і TA100 або лише на одному з них.

Таким чином, експериментальні дослідження відтінкових бальзамів, що використовують як косметичні засоби для придання волоссю

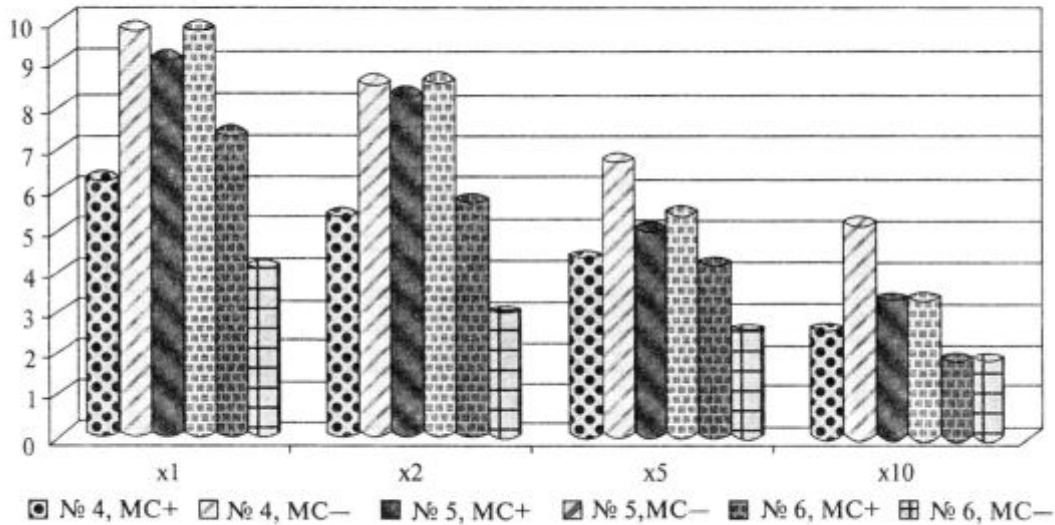


Рис. 3. Мутагенна активність відтінкових бальзамів: руський (№ 4), коричневий (№ 5) і вишневий (№ 6) в тесті Еймса (TA98)

відповідних кольорів, виявили неоднозначну мутагенну відповідь використаних нами тест-організмів на дію цих речовин. Ця дія обумовлена декількома складовими, які впливають на загальний мутагенний пул досліджуваних бальзамів незалежно одна від одної та у комплексі. Незалежність дії обумовлена наявністю у їх складі 4–5 інгредієнтів з відомими мутагенними властивостями, які не можуть не впливати на сумарну мутагенність препарату. Комплексна дія обумовлена взаємодією складових частин бальзамів з утворенням проміжних продуктів, мутагенна активність яких може бути виявлена тільки експериментальним шляхом і тільки за допомогою експрес-методів (у переважній більшості за допомогою методики Еймса і обов'язково з метаболічною активацією). Тому саме завдяки утворенню нових комплексів з невідомою біологічною дією в результаті взаємодії інгредієнтів у різних типах фарб (стійкі, напівстійкі, тимчасові) науковий комітет з косметичних продуктів та нехарчових продуктів, які призначені для споживача в Європі SCCNFP (The Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products intended for Consumers), наполягає на всебічній оцінці саме фарб, а не тільки їх складових [20].

Особливістю відтінкових бальзамів є наявність у їх складі антимуагенних речовин в достатньо високих процентних відношеннях

(токоферол ацетат, 1%), які здатні в деякій мірі пригнічувати дію мутагенів. Саме цим феноменом можна пояснити той факт, що за даними літератури мутагенність окремих складових вище, ніж виявлена нами в бальзамах.

Висновки. Майже всі досліджувані відтінкові бальзамы (16 з 17) виявили мутагенну активність в альтернативній методиці Еймса з метаболічною активацією. Система метаболічної активації в деяких випадках була ефективною, тобто виявлені мутагенні ефекти обумовлювались в основному «непрямими» мутагенами (червоне дерево, вишневий, вогненний, бордо, божоле). У решті випадків мали місце ефекти, які обумовлені первинною хімічною структурою інгредієнтів (або проміжних сполук), тобто «прямими» мутагенами. Максимальні мутагенні відповіді були отримані для бальзамів каштановий, червоне дерево і чорний, які показали «середній» ефект, залежний (червоне дерево) і незалежний (чорний і каштановий) від метаболічної активації. Для всіх бальзамів, які показали мутагенну відповідь, відзначалась залежність ефекту від ступеня розведення речовини.

SUMMARY. Using the Ames semiquantitative technique with metabolic activation by the postmitochondrial fraction of rat liver homogenate preprocessed by phenobarbital sodium salt (for induction of monooxygenases of mixed function) potential mutagenic activity of 17 colouring balms which are used as cosmetic products for hair dyeing has been

studied. The balms include water soluble dyes and pigments depositing on the surface of the hair. Potential mutagenic activity of almost all investigated colouring products has been shown. Three compositions (red tree, chestnut and black) have appeared to be the most active inducers of gene mutations showing the effect of «mean force» according to our classification. One of balms (burgund) has appeared as genetically inert. The rest balms have shown mutagen effect of «gentle force» with the ratio of control value excess from 2 up to 5-fold.

РЕЗЮМЕ. В полуколичественной методике Эймса с метаболической активацией постмитохондриальной фракцией гомогената печени крыс, преобразованных фенобарбиталом натрия (для индукции монооксигеназ смешанной функции), изучали потенциальное мутагенное действие 17 оттеночных бальзамов, которые используются в качестве косметических средств для придания волосам соответствующих оттенков. Бальзамы включают растворимые в воде красители и пигменты, которые при использовании размещаются на поверхности волоса. Показана потенциальная мутагенная активность почти у всех исследованных окрашивающих средств. Наиболее активными индукторами генных мутаций оказались три композиции — красное дерево, каштановый и черный, которые показали эффект «средней» силы по нашей классификации. Один из бальзамов — бургунд — оказался генетически инертным. Остальные показали мутагенные эффекты «слабой» силы с кратностью превышения контрольных значений от 5 до 2 раз.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Может ли косметика быть канцерогенной?* // www.vrach-kosmetolog.ru/articles.htm.
2. *Bergfeld W.F., Belsito D.V., Marks J.G., Andersen F.A.* Safety of ingredients used in cosmetics // *J. Amer. Acad. Dermatol.* — 2005. — № 52 (1). — С. 125—132.
3. *Gloor M., Senger B., Langenauer M., Fluhr J.W.* On the course of the irritant reaction after irritation with sodium Lauril sulphate // *Skin Res and Technol.* — 2004. — № 10. — P. 144—148.
4. *Malbin I., Hall G.* Cosmetic Ingredient Review Publishes New 2005 Compendium // www.cir-safety.org.
5. *Lochatann E.-R.* Chromosomal damages by Sodium lauryl sulfate in *Sachromyces cerevisiae* as studied by pulsed field gel electrophoresis // *J. Bacteriol.* — 1973. — 115. — P. 461.
6. *Topham J.C., Watkins P.A.* Experience with mutagenic tests as indicators of carcinogenic activity // *Food and Cosm. Toxicol.* — 1976. — 14. — P. 431.
7. *Lebherz W.B., Andrews A.W.* Use of the microorganism in the mutagenicity studies of Sodium lauryl sulfate // *J. Dental Res.* — 1976. — 55. — P. 266.
8. *Gordon L.A., Burkhart J.G., Andrews A.W.* Mutagenicity of cosmetics ingredients licensed by the European communities // *Bull. Environm. Contam. and Toxicol.* — 1982. — 28. — P. 504.
9. *Final Report on the Safety Assessment of Sodium Lauryl Sulfate* // *J. Amer. Col. Toxicology* — 1983. — 2, № 7.
10. *Dunkel V., Zieger E., Brusick D., McCoy E., McGregor D., Mortelmans K., Rosenkranz H., Simmon V.* Reproducibility of microbial mutagenicity assays. 2. Testing of carcinogens and noncarcinogens in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* // *Mutat. Res.* — 1985. — 158. — P. 19.
11. *Alan R. Liss, K. Green, Ph.D.* Detergent Penetration into Young and Adult eyes // *Environm. and Mol. Mutagen.* — 1994. — 24. — P. 181.
12. *Venitt S.* Mutagenicity of hair dyes: some more evidence and the problems of its interpretation // *Mutat. Res.* — 1978. — 53. — P. 278—279.
13. *Scarlet J., Babich J., Xin Fang Ma, Walter G.* Mutagens found in *Cosmetologist* // *J. Toxicol. and Environm. Health* — 1994. — 30. — P. 1230—1237.
14. *Беликов О.Е., Пучкова Т.В.* Консерванты в косметике и средствах гигиены. — М.: Школа комет. химиков, 2003. — 84 с.
15. *Ames B.N., Durston W.E., Yamasaki E., Lee F.D.* Carcinogens are mutagens: a symple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 1973. — 70. — P. 2281—2285.
16. *Ames B.N., McCann Y., Yamasaki E.* Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella/mammalian-microsome* test // *Mutat. Res.* — 1975. — 31. — P. 347—364.
17. *Malling H.V.* Dimethylnitrosoamine : Formation of Mutagenic Compound by Interaction with Mouse Liver Microsome // *Mutat. Res.* — 1971. — 13. — P. 425—425.
18. *Дуган А.М., Журков В.С., Абилов С.К.* Критерии учета мутагенных эффектов в тесте Эймса // *Цитология и генетика.* — 1990. — 24. — С. 41—45.
19. *Дуган А.М., Журков В.С.* Принципы учета результатов тестирования мутагенной активности химических соединений в полуколичественном тесте на *Salmonella* // *Актуальные проблемы оценки фармакологической активности химических соединений* : Тез. докл. Всес. конф. — М., 1981. — Ч. I. — С. 120—121.
20. *SCCNFP/0566/02 Proposal for a strategy for testing hair dye cosmetic ingredients for their potential genotoxicity/Mutagenicity.* <http://yexchange.health-well.com>

Надійшла 11.07.05