

УДК 57.084.1: 576.08: 576.356.3: 613.2
DOI: 10.21668/health.risk/2019.2.09

Читать
онлайн



СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ПИЩЕВЫХ ПОДСЛАСТИТЕЛЕЙ В ЭКСПРЕСС-БИОТЕСТЕ

А.В. Самойлов¹, Н.М. Сураева¹, М.В. Зайцева^{1,2}, М.Н. Курбанова¹, В.В. Столбова²

¹ Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова, Россия, 142703, г. Видное, ул. Школьная, 78

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12

В связи с увеличивающимся объемом производства и потребления населением различных пищевых добавок существенно возрастает риск их токсического воздействия. Часто эти добавки встречаются в различных сочетаниях друг с другом в продуктах питания и окружающей среде, употребляются продолжительное время и могут стать причиной проявления особо опасных мутагенных и канцерогенных эффектов. Поэтому оценка комбинированного действия пищевых добавок остается важнейшей проблемой их безопасности. Определенными преимуществами для скрининга токсических и мутагенных эффектов химических соединений обладают растительные тест-системы и использование вариантов цитогенетического анализа данных биотестирования. При этом особое место среди них продолжает занимать Allium-тест, в котором в качестве тест-объекта используются корни лука репчатого Allium сера. При сравнении с другими тестами с использованием животных и различных культур клеток этот тест оказывался менее сложным и затратным в исполнении и более чувствительным.

Целью настоящей работы было исследование влияния синтетических сахарозаменителей аспартама и сукралозы на пророст биомассы и частоту митотических аномалий в клетках апикальной меристемы корней лука репчатого A. сера. Оценивался также синергетический эффект при совместном воздействии этих химических соединений. Выявлено, что аспартам значительно снижал массу корней по сравнению с контролем, тогда как в отношении сукралозы не было зафиксировано токсического эффекта. Максимальная токсичность была зарегистрирована при совместной обработке тест-системы подсластителями, что оценено как результат синергетического эффекта. Частота хромосомных aberrаций в опытных образцах незначимо отличалась от таковой в контроле, но были отмечены достоверные изменения в спектре хромосомных аномалий клеток корневой меристемы. Преобладающим типом нарушений были нарушения процесса расхождения хромосом и аномалии митотического аппарата.

Ключевые слова: сукралоза, аспартам, Allium сера, биотестирование, цитогенетический анализ, токсичность, хромосомные aberrации, аномалии митотического аппарата.

Аспартам и сукралоза являются популярными сахарозаменителями при производстве широкого ассортимента пищевых продуктов, таких как безалкогольные напитки, кондитерские изделия, жевательная резинка, молочные продукты, варенье, различные соусы и приправы, а также низкокалорийные продукты. Аспартам представляет собой искусственно синтезированное химическое соединение – L-Аспартил-L-фенилаланин. Он хорошо растворим в воде, примерно в 200 раз слаще сахарозы и не пригоден для пищевых продуктов, которые подвергаются термообработке, так как при нагрева-

нии разрушается и утрачивает сладкий вкус. Другой распространенный в пищевой промышленности подсластитель – сукралозу (трихлоргалактосахарозу) – получают из сахарозы путем химического преобразования. Она термостабильна, по вкусу напоминает обычный сахар, но при этом в 600 раз слаще сахарозы. Эти подсластители официально одобрены FDA (Food and Drug Administration) в 1981 и 1998 г. соответственно. Аспартам используется в качестве подсластителя в более чем 90 странах мира при изготовлении 6000 различных видов продуктов [1]. Потребление сукралозы зафиксировано в более чем

© Самойлов А.В., Сураева Н.М., Зайцева М.В., Курбанова М.Н., Столбова В.В., 2019

Самойлов Артем Владимирович – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией качества и безопасности пищевой продукции (e-mail: molgen@vniitek.ru; тел.: 8 (495) 541-87-00; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5655-174X>).

Сураева Наталья Михайловна – доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории качества и безопасности пищевой продукции (e-mail: nsuraeva@yandex.ru; тел.: 8 (495) 541-87-00; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0144-8128>).

Зайцева Мария Вячеславовна – младший научный сотрудник лаборатории качества и безопасности пищевой продукции (e-mail: mascha.zajtseva2014@yandex.ru; тел.: 8 (495) 541-87-00; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6624-883X>).

Курбанова Мадинат Насрудиновна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории качества и безопасности пищевой продукции (e-mail: sk5969@yandex.ru; тел.: 8 (495) 541-87-00; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5798-554X>).

Столбова Валерия Владимировна – кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры радиэкологии и экотоксикологии факультета почвоведения (e-mail: vstol@bk.ru; тел.: 8 (495) 939-22-11; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5433-5533>).

70 странах мира. Кроме того, сукралоза, благодаря высокой химической стабильности ее молекулы и хорошей растворимости в воде, рассматривается как потенциальный загрязнитель окружающей среды. Сукралоза уже была обнаружена в водных бассейнах некоторых стран и даже в атлантическом Гольфстриме в пределах концентраций 0,1–1,0 г/л, и поэтому ставится вопрос о возможных рисках техногенного загрязнения природной среды этим агентом [2].

В связи с непрерывно увеличивающимся объемом производства пищевой продукции и разнообразием потребления населением данных пищевых добавок существенно возрастает риск здоровью и загрязнения ими окружающей среды. Представленный в зарубежной литературе анализ данных о безопасности искусственных подсластителей носит противоречивый характер. Тестирование проводилось на моделях культур клеток человека, животных, бактерий и на лабораторных животных. В большей части ранних публикаций подтверждалась безопасность аспартама и сукралозы при существующих нормах потребления на основании отсутствия генотоксического и острого токсического эффектов при использовании стандартных тестов, хотя также сообщалось о фактах индуцирования ими хромосомных aberrаций [1, 3–7]. Однако в последние годы появились новые факты токсичных эффектов этих подсластителей, и, как следствие, предлагалось тщательно контролировать их потребление. Так, с сукралозой были связаны определенные опасения в плане риска здоровья людей ввиду ее хлорированной структуры, так как известно, что хлорированный сахар и продукты его гидролиза, которые имеют структурное сходство с сукралозой, разрушают нервные клетки. В исследовании *in vitro* с использованием клеток печени человека было обнаружено, что сукралоза реагирует с восстановленной формой витамина В₁₂, и было высказано предположение, что такие реакции могут влиять на уровень обмена этого витамина [2]. Подтверждено и негативное влияние искусственных подсластителей, в том числе и сукралозы, на микробиоту кишечника, следствием чего были дисбактериоз и воспалительные реакции в печени мышей [8]. Согласно литературным данным, еще более серьезные последствия для здоровья могут быть связаны с употреблением аспартама в пищевых продуктах. Было показано, что добавление в питьевую воду аспартама в течение двух месяцев приводило к повреждению печени у крыс за счет индукции гипергликемии, накопления различных видов липидов на фоне окислительного стресса [9]. Гистологические и иммуногистохимические исследования генеративных тканей крыс, в диете которых присутствовал аспартам, выявили значительные нарушения в тканях плаценты и плода [10]. Также было обнаружено, что хроническое потребление аспартама, особенно на ранних стадиях развития и в течение длительных периодов, может приводить к изменениям нервной системы, астроглиозу и снижению жизнеспособности нейронов префронтальной коры, миндалин, гиппокампа и гипоталамуса у крыс [11].

Необходимо отметить, что идеальные тест-системы для имитации человеческих или животных систем детоксикации и метаболизма химических соединений пока еще не удалось создать. Также необоснованно мало внимания до сих пор уделялось изучению механизмов системных (комбинированных, сочетанных) эффектов воздействия негативных факторов на тест-организм, поэтому новые тенденции в стратегическом планировании процедуры тестирования направлены именно на изменение алгоритма оценки токсичности в отношении смесей и пищевых матриц [12]. Указанные подсластители очень часто могут присутствовать в сочетаниях друг с другом при употреблении различных продуктов питания и, следовательно, могут оказывать как аддитивный, так и синергетический негативные эффекты на организм человека. Поэтому для оценки безопасности воздействия синтетических соединений особенно актуален в настоящее время принцип комплексного подхода, который может быть осуществлен и с помощью включения экспресс-биотестов в батарею тестирования.

Определенными преимуществами в комплексном скрининге токсичных, цитотоксичных и мутагенных эффектов обладают растительные тест-системы, в которых особое место занимает *Allium*-тест. В данном методе тест-объектом являются корни лука репчатого *Allium cepa*, а тест-функцией – изменение длины/биомассы и ряд цитологических и цитогенетических показателей клеток апикальной меристемы. В настоящее время этот тест рекомендован экспертами ВОЗ в качестве стандарта при цитогенетическом мониторинге окружающей среды. Более того, данный метод также был успешно апробирован на широком спектре факторов, таких как ионизирующее и неионизирующее излучения [13–16], пищевые добавки [17], гербициды [18], лекарственные препараты [19] и даже антимутагенный потенциал [20]. При сравнении с другими тестами с использованием животных и различных культур клеток *Allium*-тест оказывался даже более чувствительным [21], а надежность данных по мутагенности обычно не вызывает сомнений, так как очень редки ложноотрицательные результаты [22]. Полагаем, что тестирование аспартама и сукралозы в экспериментах *in vivo* с помощью *Allium*-теста позволит получить новые данные о биологических эффектах этих широко используемых пищевых добавок.

Целью настоящей работы является изучение токсичности и генотоксичности аспартама и сукралозы и их комбинаций с помощью двух модификаций *Allium*-теста.

Материалы и методы. В работе использовали подсластители: сукралозу (Alfa Aesar by Thermo Fisher Scientific) и аспартам (Alfa Aesar by Thermo Fisher Scientific). В качестве тест-организма применяли одинакового размера (2,5–3,0 см в диаметре) и массы (5–7 г) луковицы – севок лука репчатого *Allium cepa* L., сорта Штутгартен. Луковицы были без зеленых листьев. Перед инкубацией удаляли сухую чешую с луковиц. Далее их помещали в слу-

чае контрольных групп пробирики объемом 10 мл с бутилированной питьевой водой, в опытных группах – в растворы подсластителей в этой же воде в концентрациях 1 и 2 г/л каждого, и совместно в концентрациях по 0,5 и 1,0 г/л. Концентрации подсластителей в растворе не превышали отечественных регламентированных норм их содержания в продуктах питания. Опытные и контрольные группы инкубировали в темноте в при 25 °С в течение пяти суток. Растворы в пробирках менялись ежедневно. После завершения инкубации корни у каждой луковицы срезали, удаляли с них остатки жидкости фильтровальной бумагой, взвешивали и далее использовали для проведения цитогенетического анализа клеток апикальной меристемы корней. Окрашивание препаратов производилось ацетоорсеином (1 г красителя орсеин разводили в 50 мл 45-ный % CH_3COOH). Для длительного хранения корни были помещены в 70 %-ный раствор этилового спирта. Далее приготавливались моментальные давленные препараты, анализ которых осуществлялся с помощью светового микроскопа Axioskop 40, Zeiss. В ходе цитогенетических исследований под микроскопом просматривали около 17 000 клеток. Статистическую обработку результатов проводили в программах Microsoft Excel и Statistica. В работе было использовано сравнение средних по критерию Стьюдента с угловым преобразованием Фишера, а также непараметрический критерий сравнения двух выборок по критерию Хи-квадрат.

Результаты и их обсуждение. Для оценки токсичного, митозмодифицирующего и генотоксич-

ного действия аспартама и сукралозы в условиях Allium-теста были изучены следующие показатели: прирост массы корней при разных концентрациях и комбинациях подсластителей, митотический индекс, частота и спектр хромосомных aberrаций. Кроме этого, были использованы две модификации постановки Allium-теста – с предварительным проращиванием корней в течение двух суток и дальнейшим отбором луковиц с длиной корней не менее 1 см (1-я и 2-я модификации соответственно) и без предварительного проращивания. Полагаем, что с помощью этого набора показателей возможна наиболее достоверная регистрация различных типов физиологических и цитогенетических нарушений в этом биотесте, отражающих общетоксический и цито(гено)токсический эффекты соответственно. Подробнее хотелось бы остановиться на показателях токсичности, так как традиционно в Allium-тесте для оценки этого параметра измеряли длину корней, однако в наших исследованиях определялась их масса. Этот показатель имеет ряд неоспоримых преимуществ, в том числе и более высокую степень чувствительности [23]. Также было проведено совместное тестирование данных соединений на предмет выявления скрытого потенциала их токсичности как проявления синергетического эффекта.

Как видно из табл. 1 и 2, достоверные отличия от контроля в снижении прироста массы корней при обработке раствором аспартама были зафиксированы в двух модификациях теста. При этом сукралоза не оказывала токсичного действия.

Таблица 1

Эффект воздействия подсластителей на прирост массы корней, митотическую активность и частоту хромосомных aberrаций клеток меристемы корней лука в 1-й модификации теста ($n = 6$)

Вариант опыта	Средняя масса корней на луковицу, г	Митотический индекс, %	Хромосомные aberrации в расчете на, %	
			общее число клеток	делящиеся клетки
Контроль	0,217 ± 0,061	5,91	0,29	4,83
Сукралоза, 1 г/л	0,228 ± 0,049	6,23	0,34	5,45
Сукралоза, 2 г/л	0,281 ± 0,081	6,26	0,96*	15,36*
Аспартам, 1 г/л	0,161 ± 0,047	4,28*	0,55*	12,77*
Аспартам, 2 г/л	0,108 ± 0,041**	4,65*	0,29	6,31*
Сукралоза + аспартам, 0,5 г/л	0,101 ± 0,039**	6,95*	0,33	4,72
Сукралоза + аспартам, 1 г/л	0,115 ± 0,036**	4,76*	0,23	4,79

Примечания: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,2$.

Таблица 2

Эффект воздействия подсластителей на прирост массы корней, митотическую активность и частоту хромосомных aberrаций клеток меристемы корней лука во 2-й модификации теста ($n = 5$)

Вариант опыта	Средняя масса корней на луковицу, г	Митотический индекс, %	Хромосомные aberrации в расчете на, %	
			общее число клеток	делящиеся клетки
Контроль	0,469 ± 0,070	12,05	1,24	10,26
Сукралоза, 1 г/л	0,429 ± 0,100	12,44	1,13	9,09*
Сукралоза, 2 г/л	0,478 ± 0,064	14,37*	1,82	12,65*
Аспартам, 1 г/л	0,206 ± 0,045*	14,62*	1,34	9,19
Аспартам, 2 г/л	0,224 ± 0,043*	15,49*	1,73*	11,18
Сукралоза + аспартам, 0,5 г/л	0,245 ± 0,141*	16,55*	1,31	7,93*
Сукралоза + аспартам, 1 г/л	0,140 ± 0,027*	9,72*	0,82*	8,48*

Примечания: * – $p < 0,05$.

Важные результаты были получены при оценке комбинированных образцов этих соединений во 2-й модификации теста. Дело в том, что если аспартам в концентрации 1 г/л достоверно снижал массу корней почти в два раза по сравнению с контролем, то при добавлении сукралозы в той же концентрации токсичность смеси значительно возрастала уже более чем в четыре раза. Более того, этот эффект был дозозависимым. Таким образом, эти данные свидетельствовали о наличии синергетического эффекта, в результате которого смесь двух химических соединений оказывалась более токсичной, чем каждый из них в отдельности за счет проявления системного эффекта. Этот факт особенно настораживает, так как эти химические соединения могут поступать одновременно как в организм человека, так и присутствовать в различных комбинациях как загрязнители окружающей среды.

Известно, что отклонение митотического индекса у тест-организма, как в сторону возрастания, так и уменьшения, является показателем цитотоксичности тестируемой среды [24]. Анализ значения этого показателя в опытных образцах с аспартамом в двух модификациях теста статистически отличался от контрольных (см. табл. 1, 2), при этом в 1-й модификации в сторону уменьшения, а во 2-й – возрастания. В образцах с сукралозой достоверная разница была отмечена только во 2-й модификации теста и при высокой концентрации этого подсластителя. Таким образом, был зарегистрирован митотоксический эффект как в образцах с аспартамом, так и с сукралозой, но он был невысоким, так как доля митотических клеток во всех опытных группах статистически отличалась от контрольных значений незначительно (менее 40%). Тогда как, например, пищевые консерванты и усилители вкуса способны в несколько раз уменьшать данный показатель [25].

Процент хромосомных aberrаций после обработки аспартамом и сукралозой (как отдельно, так

и в сочетании друг с другом) в двух модификациях теста оставался невысоким. Не был зафиксирован и дозозависимый эффект (см. табл. 1, 2). Эти данные согласуются с результатами других исследователей об отсутствии генотоксичных эффектов у этих соединений [26]. Далее нами был проанализирован спектр хромосомных aberrаций как вероятный результат адаптационных перестроек, вызванных воздействием этих соединений, или же как показатель специфичности их воздействия (рис. 1).

Выявленные aberrации были распределены нами на следующие группы: А – нарушения процесса расхождения хромосом (забегание, отставание); Б – аномалии митотического аппарата (слипание, многополюсный митоз); В – aberrации, отражающие кластогенное действие фактора (мосты, фрагменты), и Г – прочие (фрагментация, агглютинация и pulverизация хромосом). Оказалось, что в 1-й модификации теста не было выявлено достоверных различий между группами по сравнению с контролем. Тогда как во 2-й модификации почти все варианты опытных образцов статистически достоверно отличались от контрольных, а основная доля нарушений приходилась на группы А и Б (рис. 2). При этом вновь, как в результатах по измерению массы корней, наиболее значимые различия наблюдались при комбинировании аспартама и сукралозы в концентрации 1 г/л.

Согласно представленным данным, аспартам и смесь аспартама с сукралозой в пределах установленных норм их содержания в продуктах питания вызывали достоверный дозозависимый токсичный эффект. Этот результат был получен, главным образом, при исследовании макроскопических параметров (прирост массы корней), так как этот параметр являлся суммой всех эффектов нарушений, а значит и обладал более высокой чувствительностью по сравнению с микроскопическими параметрами [17]. Таким образом, изложенные выше литературные

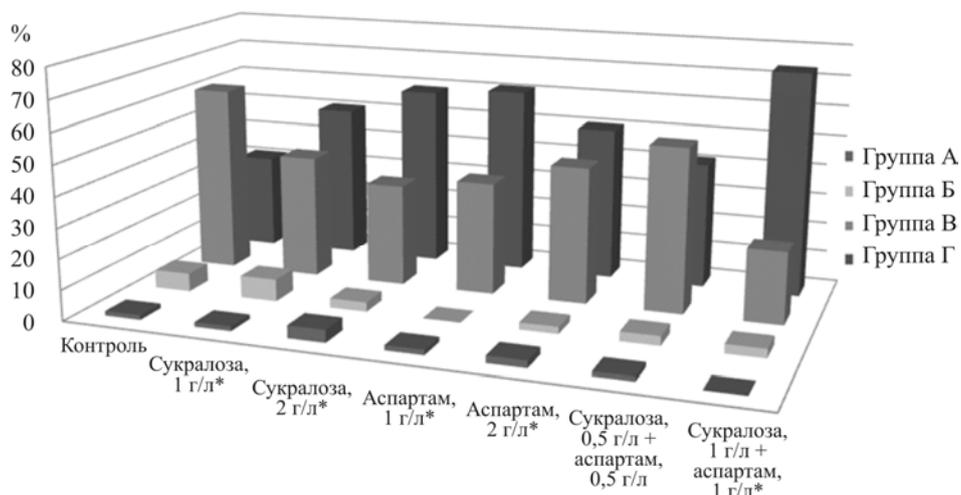


Рис. 1. Распределение хромосомных aberrаций по группам во 2-й модификации теста (%), * – $p < 0,05$

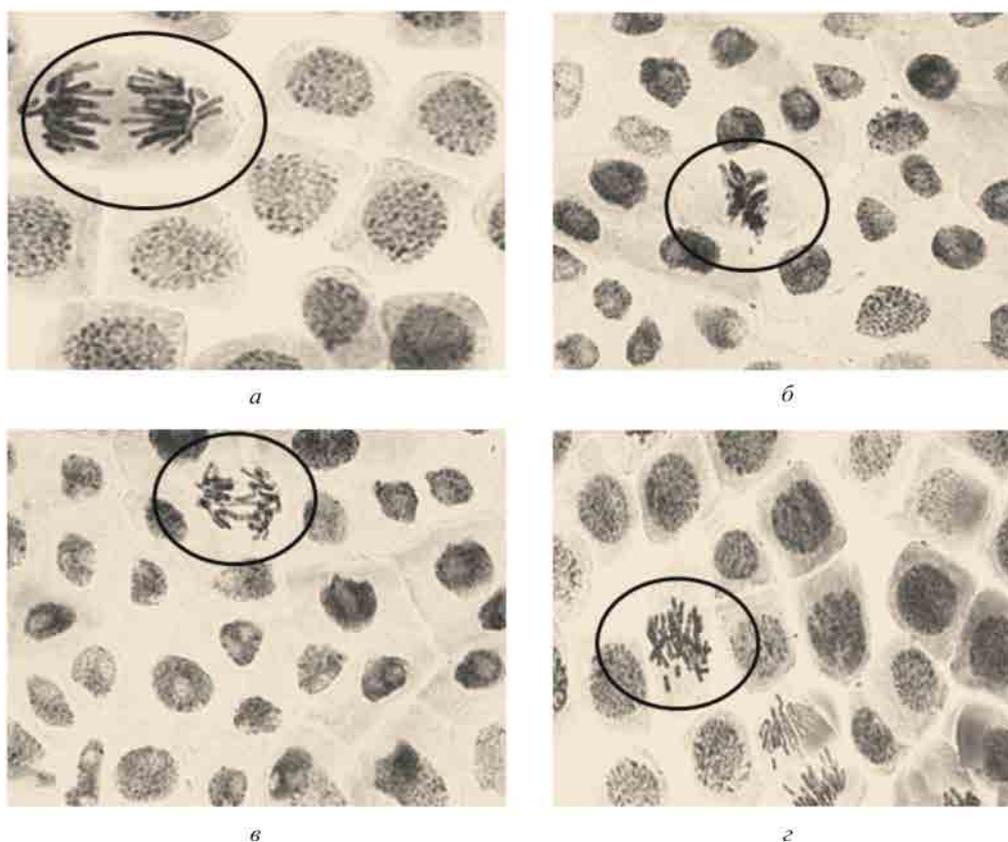


Рис. 2. Окрашенные препараты клеток меристемы лука:
а – забегание в анафазе, *б* – слипание в метафазе, *в* – мост в анафазе, *г* – фрагментация в метафазе

данные о том, что в экспериментах на животных данные подсластители были определены как факторы риска здоровью человека, подтвердились и в настоящем исследовании на растительном биотесте. В этом контексте еще более убедительными представляются аргументы в пользу пересмотра в сторону уменьшения рекомендуемых допустимых безопасных дозировок аспартама [27].

Выводы. По результатам анализа прироста массы корней после обработки аспартамом с помощью двух модификаций Allium-теста можно сделать достоверным вывод о токсичности аспартама в дозе 1 г/л (50 %-ная задержка прироста корней по сравнению с данными контроля). При этом аналогичного эффекта в отношении сукралозы обнаружено не было. Все испытываемые дозы не превышали уровня регламентированных норм их содержания в продуктах питания. Впервые были получены данные о комбинированном действии данных подсластителей и зафиксирован синергический эффект.

Было показано, что эти химические соединения достоверно влияли на спектр хромосомных aberrаций в клетках меристемы по сравнению с данными контроля. Оказалось, что наиболее информативные результаты по оценке вышеуказанных показателей токсичности и генотоксичности были получены при постановке Allium-теста с предварительным проращиванием корней (2-я модификация).

Полученные результаты согласуются с вышеупомянутым теоретическим предположением об увеличении степени токсичности в отношении смесей аспартама и сукралозы, что необходимо учитывать при решении задач гигиенического регламентирования содержания их в пищевых продуктах.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Kirkland D., Gatehouse D. Aspartame: A review of genotoxicity data // Food and Chemical Toxicology. – 2015. – Vol. 84. – P. 161–168. DOI: 10.1016/j.fct.2015.08.021
2. Sucralose induces biochemical responses in *Daphnia magna* / A.-K. Eriksson Wiklund, M. Adolfsson-Erici, B. Liewenborg, E. Gorokhova // PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9, № 4. – P. e92771. DOI: 10.1371/journal.pone.0092777
3. Исследование кластогенной активности пищевых сахарозаменителей / А.Д. Дурнев, А.В. Орищенко, А.В. Кулакова, Н.Ф. Берестень, С.Б. Середин // Вопросы медицинской химии. – 1995. – Т. 41, № 4. – С. 31–33.

4. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives / Y.F. Sasaki, S. Kawaguchi, A. Kamaya, M. Ohshita, K. Kabasawa, K. Iwama [et al.] // *Mutat. Res.* – 2002. – № 519. – P. 103–119.
5. Genotoxicity of Aspartame / E. Rencüzoğullari, B. Tüylü, M. Topaktas, I. Basri, A. Kayraldiz [et al.] // *Drug and Chemical Toxicology.* – 2004. – Vol. 3, № 27. – P. 257–268. DOI: 10.1081/DCT-120037506
6. Studies on the genotoxic effects of sucralose in laboratory mice / A. Sharma, S. Panwar, A.K. Singh, K.K. Jakhar // *Indian J. Anim. Res.* – 2007. – Vol. 1, № 41. – P. 1–8.
7. The absence of genotoxicity of sucralose / D. Brusick, V.L. Grotz, R. Slesinski, C.L. Kruger, A.W. Hayes // *Food Chem. Toxicol.* – 2010. – Vol. 11, № 48. – P. 3067–3072.
8. Quantitative proteomics reveals systematic dysregulations of liver protein metabolism in sucralose-treated mice / C.W. Liu, L. Chi, P. Tu, J. Xue, H. Ru, K.Lu // *J Proteomics.* – 2019. – Vol. 196. – P. 1–10. DOI: 10.1016/j.jprot.2019.01.011
9. Lebdä M.A., Tohamy H.G., El-Sayed Y.S. Long-term soft drink and aspartame intake induces hepatic damage via dysregulation of adipocytokines and alteration of the lipid profile and antioxidant status // *Nutr. Res.* – 2017. – Vol. 41. – P. 47–55.
10. Shalaby A.M., Ibrahim MAAH., Aboregela A.M. Effect of aspartame on the placenta of adult albino rat. A Histological and Immunohistochemical Study // *Ann. Anat.* – 2019. – Vol. 224. – P. 133–141. DOI: 10.1016/j.aanat.2019.04.007
11. Astrogliosis and decreased neural viability as consequences of early consumption of aspartame and acesulfame potassium in male Wistar rats / A. Solis-Medina, J.J. Martínez-Magaña, V. Quintanar-Jurado, I. Gallegos-Silva [et al.] // *Metab. Brain Dis.* – 2018. – Vol. 33, № 6. – P. 2031–2038.
12. B.J. Blaauboer, A.R. Boobis, B. Bradford, A. Cockburn, A. Constable, M. Daneshian [et al.] Considering new methodologies in strategies for safety assessment of foods and food ingredients // *Food and Chemical Toxicology.* – 2016. – P. 19–35. DOI: 10.1016/j.fct.2016.02.019
13. Evaluation of DNA damage in the root cells of *Allium cepa* seeds growing in soil of high background radiation areas of Ramsar-Iran / M. Saghirzadeh, M.R. Gharaati, Sh. Mohammadi, M. Ghiassi-Nejad // *Journal of Environmental Radioactivity.* 2018. – Vol. 99, № 10. – P. 1698–1702.
14. Песня Д.С., Романовский Д.С., Прохорова И.М. Разработка методики для оценки влияния УВЧ-излучения сотовых телефонов и других приборов с ЭМИ РЧ на организмы *in vivo* // *Ярославский педагогический вестник.* – 2010. – № 3. – С. 80–84.
15. Оценка цито- и генотоксичности природных вод в районе расположения хранилища радиоактивных отходов с помощью *Allium*-теста / А.А. Удалова, С.А. Гераськин, В.Г. Дикарев, Н.С. Дикарева // *Радиационная биология. Радиоэкология.* – 2014. – Т. 5, № 1. – С. 97–106.
16. Оценка цито- и генотоксичности подземных вод, отобранных на промплощадке Дальневосточного центра по обращению с радиоактивными отходами / А.А. Удалова, С.В. Пяткова, С.А. Гераськин, С.М. Киселев, С.В. Ахромеев // *Радиационная биология. Радиоэкология.* – 2016. – Т. 2, № 56. – С. 208–219. DOI: 10.7868/S0869803116020132
17. Pandey H., Kumar V., Roy B.K. Assessment of genotoxicity of some common food preservatives using *Allium cepa* L. as a test plant // *Toxicology Reports.* – 2014. – № 1. – С. 300–308. DOI: 10.1016/j.toxrep.2014.06.002
18. Yildiz M., Evrim S.A. Genotoxicity testing of quizalofop-P-ethyl herbicide using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay // *Caryologia.* – 2008. – Vol. 1, № 61. – P. 45–52. DOI: 10.1080/00087114.2008.10589608
19. Tulay A.C., Oslem S.A. Evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of *Inula viscosa* leaf extracts with *Allium* test // *Journal of Biomedicine and Biotechnology.* – 2010. – Vol. 2010. – 8 p.
20. Loganathan P.K., Natarajan P. G2 studies of antimutagenic potential of chemopreventive agent curcumin in *Allium cepa* root meristem cells // *Facta Universitatis, series: Medicine and Biology.* – 2008. – Vol. 1, № 15. – P. 20–23.
21. Fiskesjö G. The *Allium* Test as a standard in environmental monitoring // *Hereditas.* – 1985. – Vol. 102. – P. 99–112. DOI: 10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x
22. Exposure of *Allium cepa* root cells to zidovudine or nevirapine induces cytogenotoxic changes / C.K. Onwuamah, S.O. Ekama, R.A. Audu, O.C. Ezechi, M.C. Poirier [et al.] // *PLoS ONE.* – 2014. – Vol. 3. – № 9. – P. e90296. DOI: 10.1371/journal.pone.0090296
23. Сравнительное изучение показателей токсической активности в *аллиум*-тесте / М.Н. Курбанова, Н.М. Сураева, В.П. Рачкова, А.В. Самойлов // *Аграрный вестник Урала.* – 2018. – № 4 (171). – С. 20–25.
24. Leme D.M., Marin-Morales M.A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application // *Mutation Research.* 2009. – Vol. 1, № 682. – P. 71–81. DOI: 10.1016/j.mrrev.2009.06.002
25. Antiproliferative and genotoxic effects of nature identical and artificial synthetic food additives of aroma and flavor / R.D.M. Nunes, I.M.S. Sales, S.I.O. Silva, J.M.C. Sousa, A.P. Peron // *Braz. J. Biol.* – 2017. – Vol. 1, № 77. – P. 150–154. DOI: 10.1590/1519-6984.12115
26. Olusegun E., Adegoke T., Adegoke O.A. Toxicity of food colours and additives: A review // *African Journal of Pharmacy and Pharmacology.* – 2015. – Vol. 9, № 36. – P. 900–914. DOI: 10.5897/AJPP2015.4385
27. Choudhary A.K., Pretorius E. Revisiting the safety of aspartame // *Nutr Rev.* – 2017. – Vol. 75, № 9. – P. 718–730. DOI: 10.1093/nutrit/nux035

Самойлов А.В., Сураева Н.М., Зайцева М.В., Курбанова М.Н., Столбова В.В. Сравнительная оценка токсичности пищевых подсластителей в экспресс-биотесте // Анализ риска здоровью. – 2019. – № 2. – С. 83–90. DOI: 10.21668/health.risk/2019.2.09



COMPARATIVE ASSESSMENT OF ARTIFICIAL SWEETENERS TOXICITY VIA EXPRESS BIOTEST

A.V. Samoilov¹, N.M. Suraeva¹, M.V. Zaitseva^{1,2}, M.N. Kurbanova¹, V.V. Stolbova²

¹V.M. Gorbатов's Federal Scientific Center for Nutrition Systems, RAS, 78 Shkolnaya Str., Vidnoe, 142703, Russian Federation

²Moscow State University, 12 Bldg., 1 Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russian Federation

Various food additives are being produced and consumed by population in greater and greater quantities and risks of probable toxic effects exerted by them are growing as well. These additives frequently occur in various combinations in food products and the environment, they can be consumed for a long period of time and produce hazardous mutagenic and carcinogenic effects. Therefore, it is extremely vital to assess combined impacts exerted by food additives so that their safety would be proven. There are certain advantages related to vegetative test-systems and cytogenetic analysis procedures for biological tests data when it comes to screening for toxic and mutagenic effects produced by chemicals. Allium-test which applies Allium cerea bulb onion roots as a test-object is quite distinctive. When compared with other tests that employ animals and various cell cultures, this test turns out to be less complicated and costly and more sensitive as well.

Our research goal was to examine influences exerted by such artificial sweeteners as aspartame and sucralose on living weight gain and mitotic anomalies frequency in apical meristem cells in Allium cerea bulb onion roots. We also assessed a synergy effect caused by combined exposure to both these chemicals. We detected that aspartame caused a significant decrease in root living weight against the control while there were no toxic effects caused by sucralose. Maximum toxicity was detected when a test-system was exposed to both artificial sweeteners together and it was considered to result from the above mentioned synergy effect. Chromosome aberrations frequency in test samples differed insignificantly from the control but we also detected authentic changes in chromosome anomalies spectrum in root meristem cells. Disorders in chromosome disjunction and anomalies in the mitotic apparatus were the most frequently registered ones.

Key words: sucralose, aspartame, Allium cepa, biological testing, cytogenetic analysis, toxicity, chromosome aberrations, anomalies in the mitotic apparatus.

References

1. Kirkland D., Gatehouse D. Aspartame: A review of genotoxicity data. *Food and Chemical Toxicology*, 2015, vol. 84, pp. 161–168. DOI: 10.1016/j.fct.2015.08.021
2. Eriksson Wiklund A.-K., Adolfsson-Erici M., Liewenborg B., Gorokhova E. Sucralose induces biochemical responses in *Daphnia magna*. *PLoS ONE*, 2014, vol. 9, no. 4, e92771 p. DOI: 10.1371/journal.pone.0092777
3. Durnev A.D., Orishchenko A.V., Kulakova A.V., Beresten' N.F., Seredin S.B. Clastogenic activity of dietary sugar substitutes. *Voprosy meditsinskoi khimii*, 1995, vol. 41, no. 4, pp. 31–33.
4. Sasaki Y.F., Kawaguchi S., Kamaya A., Ohshita M., Kabasawa K., Iwama K. [et al.]. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. *Mutat Res*, 2002, no. 519, pp. 103–119.
5. Rencüzoğullari E., Tüylü B., Topaktas M., Basri I., Kayraldiz A. Genotoxicity of Aspartame. *Drug and Chemical Toxicology*, 2004, vol. 3, no. 27, pp. 257–268. DOI: 10.1081/DCT-120037506
6. Sharma A., Panwar S., Singh A.K., Jakhar K.K. Studies on the genotoxic effects of sucralose in laboratory mice. *Indian Journal Of Animal Research*, 2007, vol. 1, no. 41, pp. 1–8.
7. Brusick D., Grotz V.L., Slesinski R., Kruger C.L., Hayes A.W. The absence of genotoxicity of sucralose. *Food and Chemical Toxicology*, 2010, vol. 11, no. 48, pp. 3067–3072.

© Samoilov A.V., Suraeva N.M., Zaitseva M.V., Kurbanova M.N., Stolbova V.V., 2019

Artem V. Samoilov – candidate of biological sciences, head of laboratory of quality and safety of food products (e-mail: molgen@vniitek.ru; tel.: +7 (495) 541-87-00; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5655-174X>).

Natal'ya M. Suraeva – doctor of biology, chief researcher in laboratory of quality and safety of food products (e-mail: nsuraeva@yandex.ru; tel.: +7 (495) 541-87-00; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0144-8128>).

Mariya V. Zaitseva – junior researcher in laboratory of quality and safety of food products (e-mail: mascha.zajtseva2014@yandex.ru; tel.: +7 (495) 541-87-00; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6624-883X>).

Madinat N. Kurbanova – candidate of biological sciences, senior researcher in laboratory of quality and safety of food products (e-mail: sk5969@yandex.ru; tel.: +7 (495) 541-87-00; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5798-554X>).

Valeriya V. Stolbova – candidate of biological sciences, senior lecturer, department of radioecology and ecotoxicology, faculty of soil science (e-mail: vstol@bk.ru; tel.: +7 (495) 939-22-11; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5433-5533>).

8. Liu C.W., Chi L., Tu P., Xue J., Ru H., Lu K. Quantitative proteomics reveals systematic dysregulations of liver protein metabolism in sucralose-treated mice. *J Proteomics*, 2019, vol. 196, pp. 1–10. DOI: 10.1016/j.jprot.2019.01.011
9. Lebda M.A., Tohamy H.G., El-Sayed Y.S. Long-term soft drink and aspartame intake induces hepatic damage via dysregulation of adipocytokines and alteration of the lipid profile and antioxidant status. *Nutr. Res.*, 2017, vol. 41, pp. 47–55.
10. Shalaby A.M., Ibrahim MAAH., Aboregela A.M. Effect of aspartame on the placenta of adult albino rat. A Histological and Immunohistochemical Study. *Ann. Anat.*, 2019, vol. 224, pp. 133–141. DOI: 10.1016/j.aanat.2019.04.007
11. Solis-Medina A., Martínez-Magaña J.J., Quintanar-Jurado V., Gallegos-Silva I. [et al.] Astrogliosis and decreased neural viability as consequences of early consumption of aspartame and acesulfame potassium in male Wistar rats. *Metab. Brain Dis.*, 2018, vol. 33, no. 6, pp. 2031–2038.
12. Blaauboer B.J., Boobis A.R., Bradford B., Cockburn A., Constable A., Daneshian M. [et al.]. Considering new methodologies in strategies for safety assessment of foods and food ingredients. *Food and Chemical Toxicology*, 2016, pp. 19–35. DOI: 10.1016/j.fct.2016.02.019
13. Saghizadeh M., Gharaati M. R., Mohammadi Sh., Ghiassi-Nejad M. Evaluation of DNA damage in the root cells of Allium cepa seeds growing in soil of high background radiation areas of Ramsar-Iran. *Journal of Environmental Radioactivity*, 2018, vol. 99, no. 10, pp. 1698–1702.
14. Pesnya D.S., Romanovsky A.V., Prokhorova I.M. Working out technique for estimating the influence of UHF-radiation of cell telephones and other devices with EMR RF on organisms in vivo. *Yaroslavskii pedagogicheskii vestnik*, 2010, no. 3, pp. 80–84.
15. Oudalova A.A., Geras'kin S.A., Dikarev V.G., Dikareva N.S. Assessment of cyto- and genotoxicity of natural waters in the vicinity of radioactive waste storage facility using Allium test. *Radiation biology. Radioecology*, 2014, vol. 54, no. 1, pp. 97–106.
16. Oudalova A.A., Pyatkova S.V., Geras'kin S.A., Kiselev S.M., Akhromeev S.V. Assessment of cyto and genotoxicity of underground waters from the far Eastern Center on Radioactive Waste Treatment Site. *Radiation biology. Radioecology*, 2016, vol. 2, no. 56, pp. 208–219. DOI: 10.7868/S0869803116020132
17. Pandey H., Kumar V., Roy B.K. Assessment of genotoxicity of some common food preservatives using Allium cepa L. as a test plant. *Toxicology Reports*, 2014, no. 1, pp. 300–308. DOI: 10.1016/j.toxrep.2014.06.002
18. Yildiz M., Evrim S.A. Genotoxicity testing of quizalofop-P-ethyl herbicide using the Allium cepa anaphase-telophase chromosome aberration assay. *Caryologia*, 2008, vol. 1, no. 61, pp. 45–52. DOI: 10.1080/00087114.2008.10589608
19. Tulay A.C., Oslem S.A. Evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of inula viscosa leaf extracts with Allium test. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010, vol. 2010, 8 p.
20. Loganathan P.K., Natarajan P. G2 studies of antimutagenic potential of chemopreventive agent curcumin in Allium cepa root meristem cells. *Facta Universitatis, series: Medicine and Biology*, 2008, vol. 1, no. 15, pp. 20–23.
21. Fiskesjo G. The Allium Test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*, 1985, vol. 102, pp. 99–112. DOI: 10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x
22. Onwuamah C.K., Ekama S.O., Audu R.A., Ezechi O.C., Poirier M.C. [et al.]. Exposure of Allium cepa root cells to zidovudine or nevirapine induces cytogenotoxic changes. *PLoS ONE*, 2014, vol. 3, no. 9, e90296 p. DOI: 10.1371/journal.pone.0090296
23. Kurbanova M. N., Suraeva N.M., Rachkova V.P., Samoylov A.V. Comparative study of indicators of toxic activity in the Allium-test. *Agrarnii vestnik Urala*, 2018, no. 171 (4), pp. 20–25.
24. Leme D.M., Marin-Morales M.A. Allium cepa test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutation Research*, 2009, vol. 1, no. 682, pp. 71–81. DOI: 10.1016/j.mrrev.2009.06.002
25. Nunes R.D.M., Sales I.M.S., Silva S.I.O., Sousa J.M.C., Peron A.P. Antiproliferative and genotoxic effects of nature identical and artificial synthetic food additives of aroma and flavor. *Braz. J. Biol.*, 2017, vol. 1, no. 77, pp. 150–154. DOI: 10.1590/1519-6984.12115
26. Olusegun E. Adegoke T., Adegoke O.A. Toxicity of food colours and additives: A review. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2015, vol. 9, no. 36, pp. 900–914. DOI: 10.5897/AJPP2015.4385
27. Choudhary A.K., Pretorius E. Revisiting the safety of aspartame. *Nutr Rev.*, 2017, vol. 75, no. 9, pp. 718–730. DOI: 10.1093/nutrit/nux035

Samoilov A.V., Suraeva N.M., Zaitseva M.V., Kurbanova M.N., Stolbova V.V. Comparative assessment of artificial sweeteners toxicity via express biotest. *Health Risk Analysis*, 2019, no. 2, pp. 83–90. DOI: 10.21668/health.risk/2019.2.09.eng

Получена: 20.03.2019

Принята: 14.06.2019

Опубликована: 30.06.2019