



8

ТЕМАТА  
НА ОСЕМ

Български генетици доказаха,  
че поне 6 Е-та увреждат  
клетките, разкъсват ДНК  
и създават риск от рак

НЕ gonu



З

наем, че добавките в храните, означавани с „Е“, не са букет от витамини, но известно ли ни е, че някои от тях буквално залагат бомба в организма ни, като увреждат ДНК? Така създават сериозен риск от рак. И още по-лошо - могат да се предават в поколенията ни. Най-жестоките убийци се оказват оцветители. Български генетици изследваха 20 Е-та, за 6 данните им са категорични: те опасно променят ДНК дори в много по-ниски концентрации от сега разрешените. За да са безопасни, Е-тата трябва да са в дози, от 10 до 100 пъти по-малки от нормативно приетите. **Списание 8** видя на живо в лабораторията истината за Е-тата.

# СТИМО!

Женя Милчева

снимки Владимир Мачоков и Добрин Кашавелов

ИЗСЛЕДВАНЕТО:

*Дозите трябва да са до 100 пъти по-ниски*

*стр. 38*

В ЛАБОРАТОРИЯТА:

*Най-големите поражения са от оцветители*

*стр. 44*

ИНИЦИАТИВАТА:

*Списание 8: Променете регламента!*

*стр. 53*

„Като чета какво пише на опаковката, ми се струва по-безопасно да изям нея, отколкото съдържанието ѝ.“ Така реагира един приятел, докато броеше колко Е-та са споменати сред съставките на популярно детско лакомство – повече от пръстите на ръката! Какво пък толкова? Нали има органи за контрол на храните, които следят на пазара да се появяват само такива, които не вредят на здравето. Това, което намираме по щанговете в магазините, ако не полезно, би трябвало да е поне безопасно. Ами ако самият критерий за безопасност е сбъркан?

# Шарени убийци

*За да са безопасни Е-тата, концентрацията им в храните трябва да е от 10 до 100 пъти по-ниска от разрешената сега*

**Н**а пазара почти няма пакетирани или консервирани продукти без добавки, известни още като „Е-та“. Тези добавки са няколко групи – консерванти, стабилизатори, оцветители, подсладители, набухватели, емулгатори. Най-общо казано, целта им е да направят продуктите по-трайни, по-вкусни и по-привлекателни за околото. (За Е-тата ви разказахме подробно в бр. 12 от 2009 г. на **Списание 8**.) В Европейския съюз одобрени за употреба са

няколкостотин, регламентирана е и допустимата им концентрация в продукта. На опаковките не пише каква е тя, но е задължително Е-тата да са упоменати. Презумпцията е, че се съдържат в допустимите количества.

## ЧУВСТВТЕЛНО

И тук стигаме до важния въпрос – дали тези допустими количества са безвредни. Не, не са. Поне 6 Е-та – сред които консервант, 3 оцветителя, добавка за енергийни напитки и популярна съставка на аналгетици – са в концентрации, които могат да доведат до рак!

Доц. д-р Георги Милошев – ръководител на Лабораторията по молекулярна генетика към Института по молекулярна биология на БАН, е изследвал 20-ина Е-та и е публикувал резултатите за 6 от тях.

При определянето на допустимите дози не е било ясно как влияят на ДНК.

Той е усъвършенствал метод за оценка на въздействието на Е-тата върху ДНК. Неговият метод е от 100 до 10 000 пъти по-чувствителен от използваните досега.

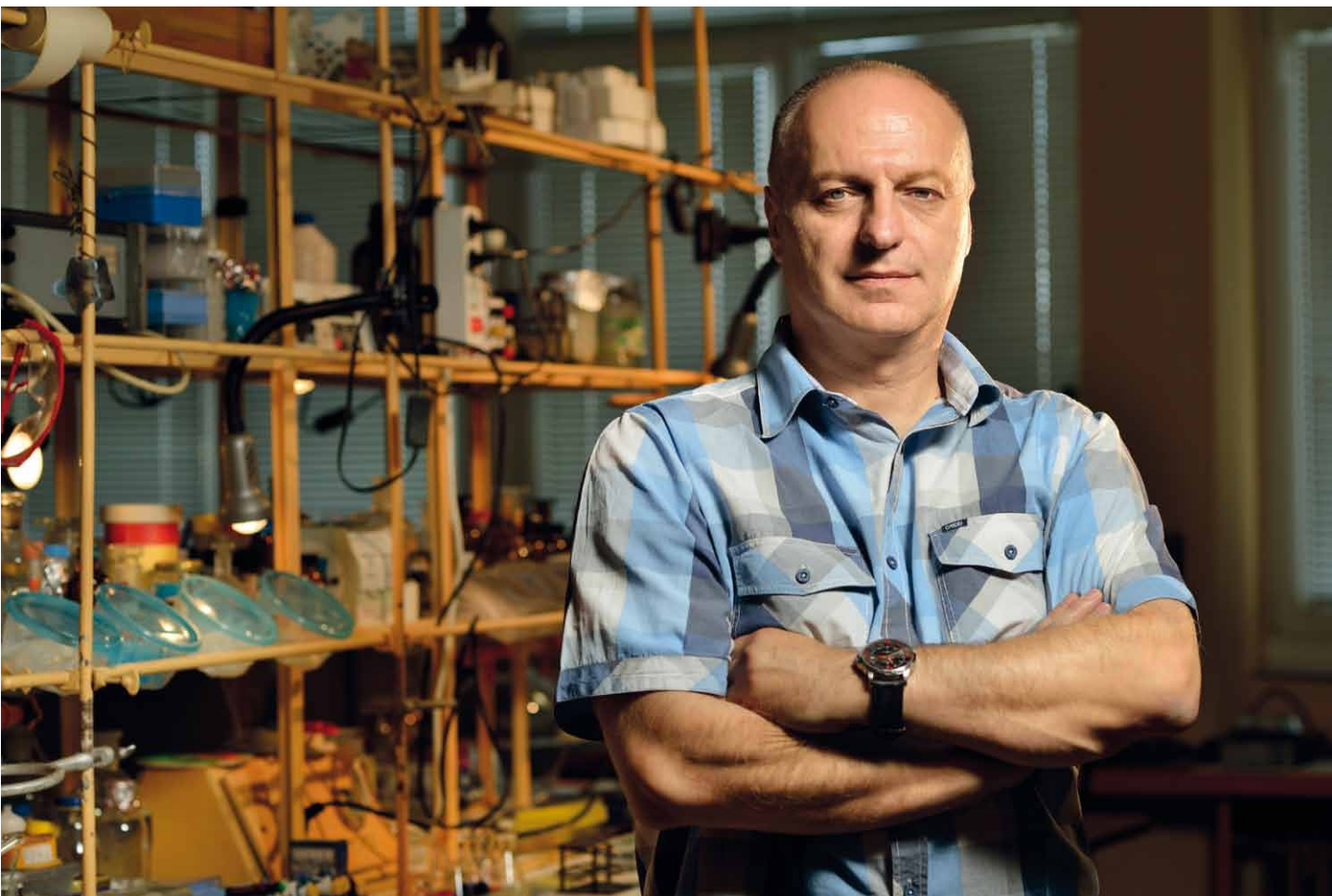
Доц. Милошев обяснява: „Когато допустимите количества на различните добавки в храните са били определяни, никога не е изследвал въздействието им върху ДНК. А ДНК е матрицата на живота и е първият етап, на който могат да възникнат увреждания, водещи до патология в организма. За съжаление, преди повече от 30 – 40 години токсичността на хранителните добавки и консерванти е определяна с експерименти върху мишки. Следяло се е при какви количества настъпват малформации и увреждания в различните органи

на моделните обекти (черния гроб, кръвоносната система и гр.), както и кога животното се разболява от рак. Така по аналогия се преценява колко е безопасната доза за човека. И готук.“

## ШЕСТ РИСКА

Използвайки своя по-модерен и много по-чувствителен метод за отчитане на въздействието на вещества върху ДНК, доц. Милошев проверява дали наистина допустимите концентрации на Е-та са безопасни. Изследва въздействието на приблизително 20 добавки върху ДНК и успява да публикува получените резултати

Доц. Георги Милошев създава по-съвършен метод за изследване на въздействието на Е-тата върху ДНК.



## От всички Е-та най-силно увреждащи ДНК са оцветителите.

за шест от изследваните Е-та в научна публикация, излязла неотдавна в престижното списание Food Science and Technology.

Това, което доц. Милошев и неговият екип са проверили, е въздействието на изследваните Е-та върху генома (върху ДНК). Публикуваните досега резултати са за един консервант - натриев нитрит Е 250; три оцветителя: индиго кармин Е 132 (дава виолетов цвят), еритрозин Е 127 (оцветява в червено) и фаст грийн Е 143 (зелен цвят); добавката кафеин (или кофеин) - много използвана в енергийните напитки; и четири-амино-антипирин (с приложение във фармацевтичната индустрия, добавян към аналгетици).

Учените от Лабораторията по молекулярна генетика, ИМБ – БАН, третират клетките с много високи дози от тези добавки, минават през допустимите и продължават с такива далеч под разрешените. Така проверяват каква концентрация от всяко от тези вещества предизвиква увреждане в ДНК. Разбира се, има и контроли – когато клетката не получава никакво вещество, а само чиста вода.

### МУТАГЕНИ

Резултатът е категоричен. И ужасяващ! „Допустимите стойности на всички изследвани Е-та предизвикват увреждане в ДНК. При различните вещества увреждането зависи от дозата, но е налице и при шестте Е-та. Честно казано, не предполагам, че допустимите количества се отразяват толкова зловещо. За още 14 изследвани добавки има сериозни данни, че правят същото“, казва доц. Милошев. И обяснява:

„Уврежданията на ДНК са различни ви-

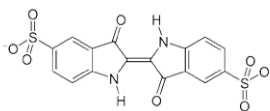
дове. Например скъсвания във веригата на ДНК – скъсване в едната или в двете нишки едновременно. По-мощните химикали прекъсват и двете, което е много опасно за клетката, защото може да предизвика рак! Ако е скъсана само едната нишка, по-лесно се „поправя“. Друго увреждане е т.нар. химическа модификация – Е-тата химически променят базите (строителните блокове) на ДНК, като им добавят метилни групи. Така оказват въздействие върху процесите в ДНК: репликацията (удвояването на ДНК) или транскрипцията (презаписването на информация за синтез на белтък), които в резултат на уврежданията не протичат правилно. Трети вид увреждане: Е-тата могат да предизвикат необратимо слепване на двете вериги на ДНК, така че двойната спирала не може да се разплете при репликацията, а това е в основата на гелението на клетките. Всичко изброено може да доведе до мутации в ДНК, а мутациите са вредни за организма. Веществата, които предизвикват това, се наричат мутагени. Такива са цигареният дим, изкуствените торове, отработените автомобилни газове. Е-тата също са мутагени. Основното следствие от уврежданията в ДНК е, че могат да предизвикат рак.“

Изследването на доц. Милошев е показало, че опасността остава дори при намаляване на „дозата“ на Е-тата. За да няма увреждане на ДНК и съответно – риск от рак, изследваните вещества трябва да са в концентрация от 10 до 100 пъти по-малка от сега допустимата. (Виж таблицата на съседната страница.)

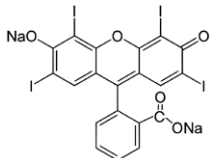
### ПЪСТРА ЗАПЛАХА

„От всички Е-та най-силно увреждащи ДНК са оцветителите! Шарените бонбони, на които децата толкова налцат, са страшно опасни, а от многоцветните торти най-вредни са тези със снимка отгоре“, подчертава генетикът.

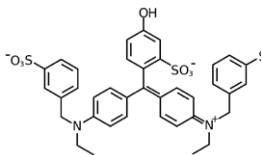
Натриевият нитрит (Е 250) е стандартен и много широко разпространен кон-



Индиго кармин



Еритрозин



Фаст грийн

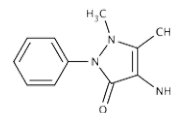


сервант. Слагат го в металните консерви с риба, месо, зеленчуци и готови ястия. Производителите го предпочитат, защото малки количества от него вършат по-добра работа, отколкото много сол. Приет е за употреба в ЕС, определени са допустимите му количества. Но също е опасен. Той поразява най-тежко ДНК, както оцветителите и убива клетката и по друг механизъм – уврежда органи в нея, блокира белтъчния синтез.

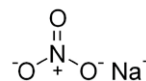
Има ли спасение? Когато храните се произвеждат промишлено, не може да се мине без консерванти. Производителите едва ли ще се откажат и от ярките цветове, които правят изделията им красиви. Доц. Милошев е установил точните безо-

пасни стойности за всяко от проверяваните Е-та. Нормалното би било производителите да се обърнат към учените и да ги попитат: „Какво количество от Е-та е безопасно да сложим?“. Но дали ще се вслушат в мнението им, ако има вероятност да не получат яркочервения цвят, който така добре продава? И дали ще са склонни да търсят други – безвредни – оцветители, ако това ще им бръкне по-дълбоко в джобовете? „Работата на учените е да предупреждават обществото за рисковете, а то е в правото си да настоява пред политиците и съответните институции за такива промени, които ще напътят здравето му“, казва доц. Милошев.

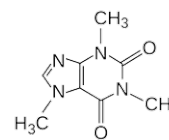
Още на [www.epigenetics4U.blogspot.com](http://www.epigenetics4U.blogspot.com)



4-амино-антипирин



Натриев нитрит



Кафеин

## Изследваните Е-та: какво, къде, защо, колко

Съединение	Описание	Използване в	Концентрация (в ppm/L)	
			Използвана	Безопасна
<b>Натриев нитрит Е 250 (консервант)</b>	Неорганично съединение. Използва се при производството на бои и на някои органични вещества. В стомаха заедно с други вещества може да образува канцерогенните N-нитрозамини.	Хайвер, месни, птичи и дивечови продукти, които не минават топлинна обработка. Също и при готвени храни от риба и рибни продукти.	0.1-2.5	пог 0.0001
<b>Кафеин (добавка)</b>	Растителен алкалоид. Вероятно най-често усвояваното при храносмилането фармакологично активно вещество в света.	Кафе, чай, кока-кола, енергийни напитки, млечен шоколад и др.	0.1-14.4	пог 0.001
<b>Индиго кармин Е 132 (оцветител)</b>	Органично съединение със специфичен син цвят. Почти всички видове, използвани днес, са синтетични.	Конфитюри, желета, плодови пулкове, пюрета, кокосово мляко; какаови и шоколадови продукти, гъвки, печива; прясна риба; това е и оцветителят, който се ползва при гастроинтестинална ендоскопия.	0.1-4.3	пог 0.001
<b>Еритрозин Е 127 (оцветител)</b>	Синтетична боя за оцветяване на хранителни продукти. Влиза в състава и на някои мастила за полиграфията.	Сушени и подсладени плодове, сладоледи, сорбета, конфитюри, желета, плодови полуфабрикати, твърди и меки бонбони, гъвки, сладкарски изделия и пр.	0.05-0.5	пог 0.001
<b>Фаст грийн Е 143 (оцветител)</b>	Синтетична боя за оцветяване на хранителни продукти.	Консервирани и бутилирани плодови сокове и нектари, конфитюри, туршии, сосове, полуготова паста (спагети и др.), ликьори, бира, вино, десерти с голямо съдържание на яйца.	0.1-0.75	пог 0.001
<b>4-амино-антипирин (добавка към аналгетици)</b>	Широко приложение във фармацевтичната промишленост. Смята се, че в клетката 4-ААР се модифицира по начин, който може да предизвика увреждане на ДНК.	Метаболит на различни лекарства. (В състава на аминопирин, метамизол, нестероидните противовъзпалителни лекарства.) Има аналгетично, антипиретично и противовъзпалително действие.	0.5-8.4	пог 0.01

# ДНК: репликация и мутации

**P** Фосфатна група

**S** Захари

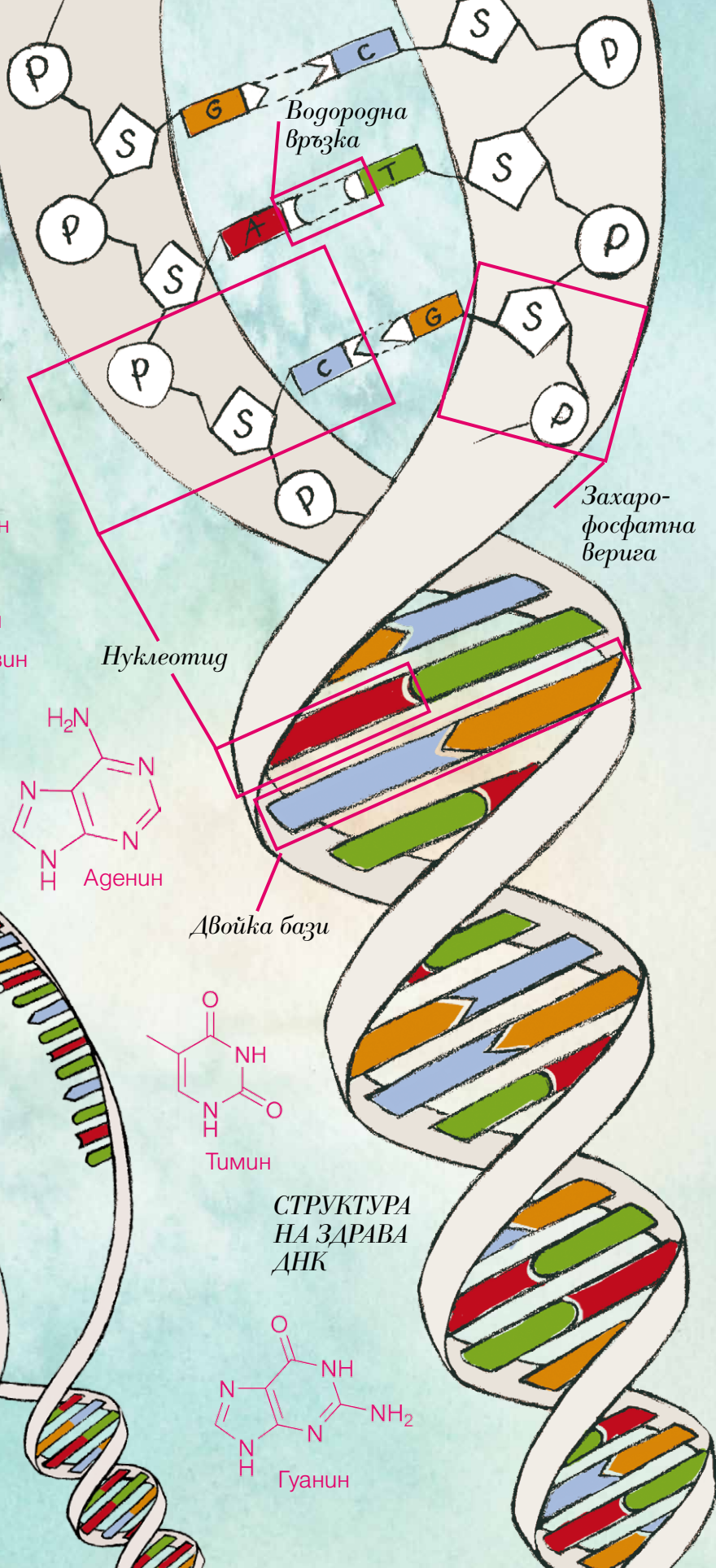
Бази  
(свързват се винаги аденин с тимин и гуанин с цитозин)

**A** Аденин

**T** Тимин

**G** Гуанин

**C** Цитозин

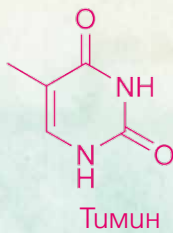
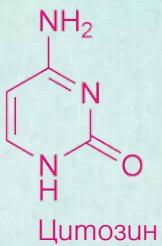
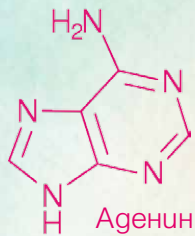


Водородна връзка

Захаро-фосфатна верига

Нуклеотид

Двойка бази



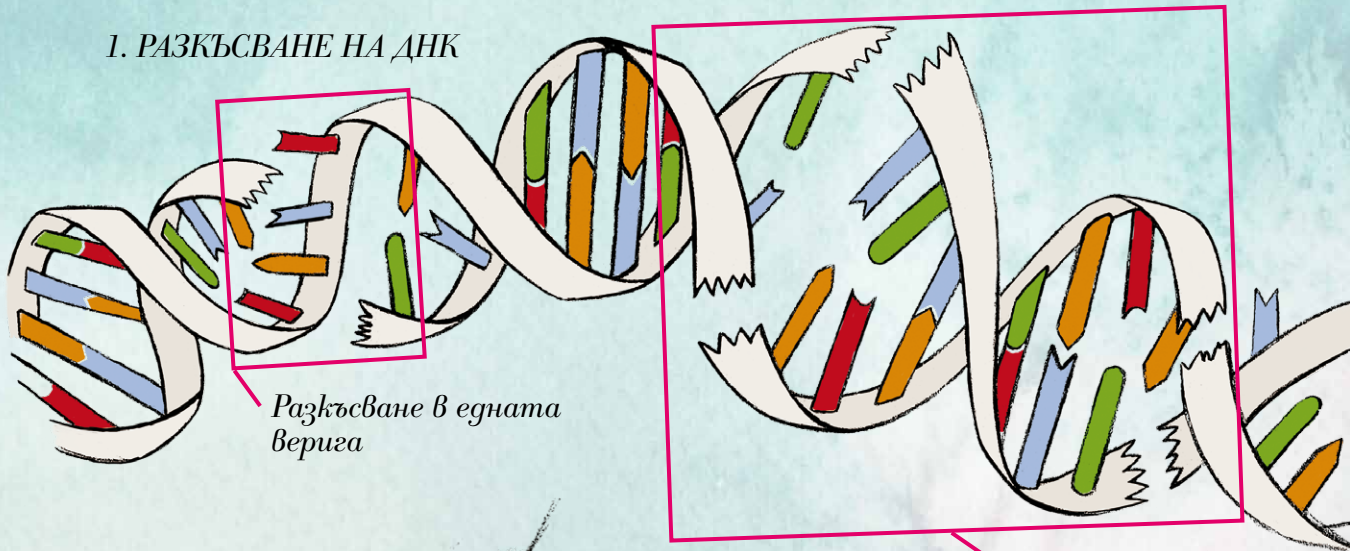
СТРУКТУРА НА ЗДРАВА ДНК



РНК

НОРМАЛНО ПРОТИЧАЩА РЕПЛИКАЦИЯ

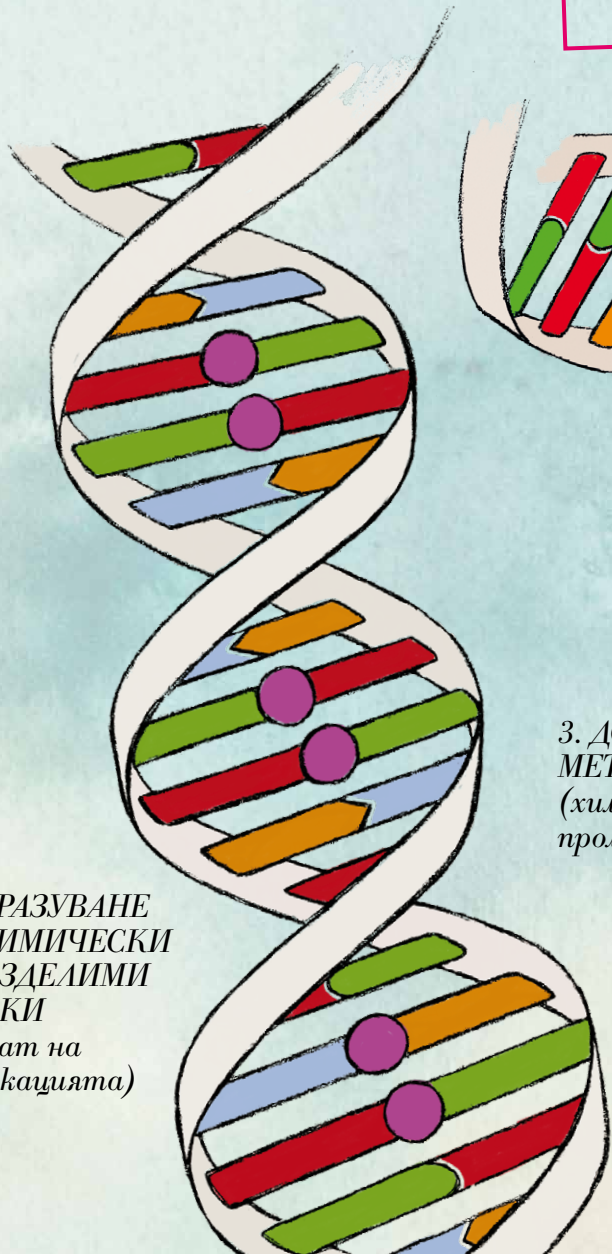
1. РАЗКЪСВАНЕ НА ДНК



Разкъсване в едната верига

Разкъсване в двете вериги

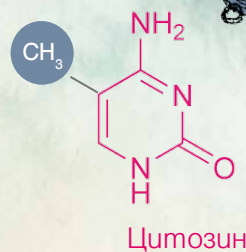
2. ОБРАЗУВАНЕ НА ХИМИЧЕСКИ НЕРАЗДЕЛИМИ ВРЪЗКИ (пречат на репликацията)



3. ДОБАВЯНЕ НА МЕТИЛНА ГРУПА (химически променят базите)



Метилна група





Двайсет минути. Нищо време, а се точи като век. Време, в което се провежда важен експеримент. Изследва се влиянието върху молекулата на ДНК на широко използвани в хранителната промишленост консерванти, оцветители и подобрители. Експериментът се провежда от учените от Лабораторията по молекулярна генетика към Института по молекулярна биология - БАН. Всички те са професионалисти в тази сфера, но въпреки това всеки експеримент е тръпка за тях.

# ДНК комета

*Увредената двойна спирала на живота  
заприличва на опашатото космическо тяло  
и вещае болест и смърт*

**И**зследователите са в очакване, проявяват нетърпение и нескрито любопитство към поредната загадка на живата природа. Резултатите от теста се отчитат с микроскоп. Докато доц. д-р Георги Милошев - ръководител на лабораторията, се взира през окуляра, другите са се скупчили около него. Тишината е гробна, чува се само дишането им. Шефът вдига поглед от микроскопа и леко се усмихва. „Йеее!“, избухва екипът.

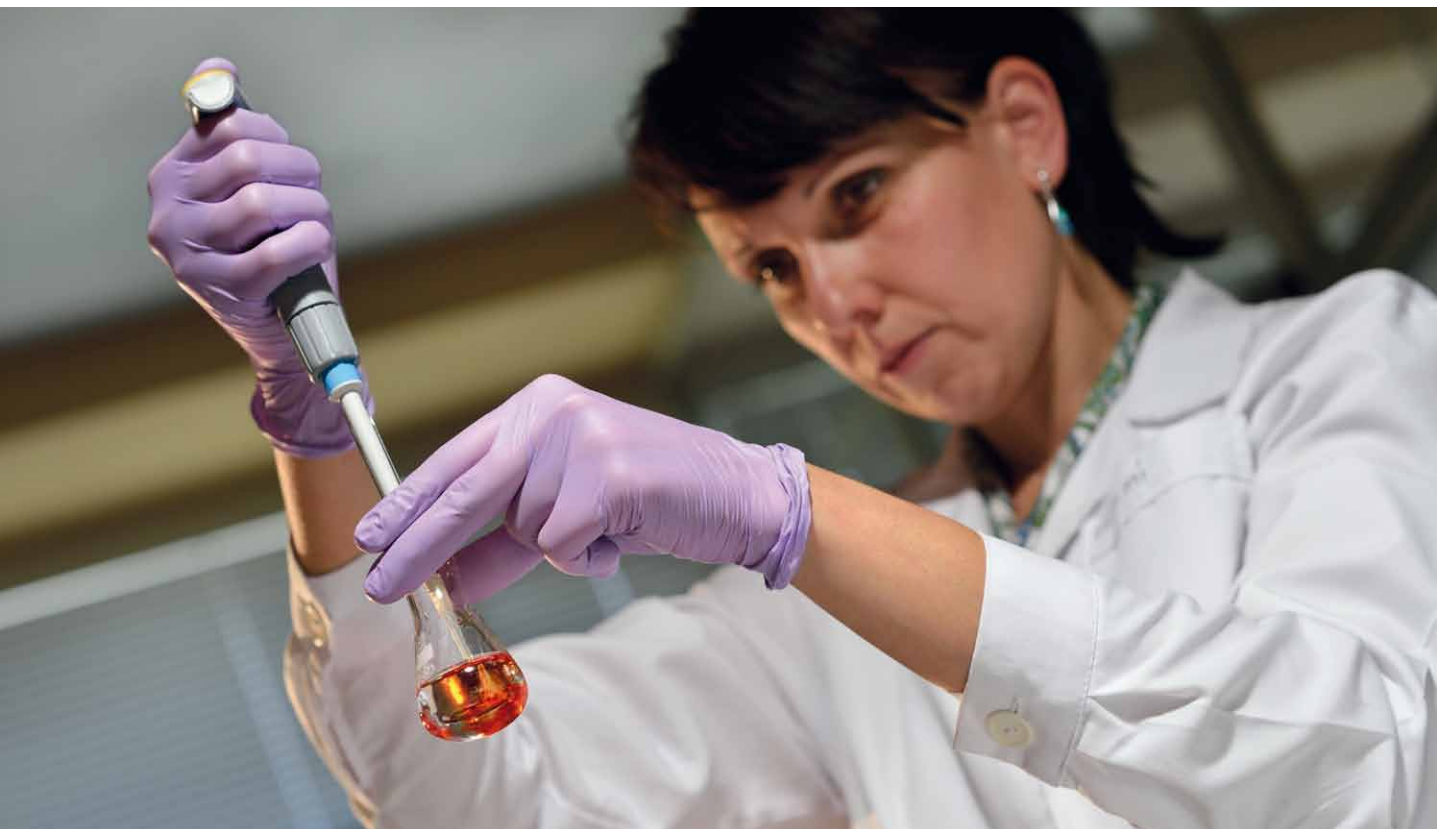
Така ли беше, питаме доц. Милошев. Той се размива: „Е, не точно, но възлнение наистина имаше.“

Ученият току-що ни е разказал и показал през какви етапи минава изследването за въздействие на хранителните добавки,

известни като Е-та, върху ДНК. Следейки разказа му, си набелязваме петия етап от изследването като най-граматичния. А следващия кръщаваме „момента на истината“. Екипът на **Списание 8** наблюдава всички етапи, което отне няколко дни. Но това е само „късата версия“ на историята, защото видяхме как методът се прилага само за един вид Е-та (оцветители) и само в една концентрация.

## 3 ГОДИНИ

Истинската история минава през същите етапи, но те се повтарят стотици пъти – за няколко вида Е-та, изследвани в най-различни концентрации, а всяка „проба“ се повтаря многократно. Проектът отнема на екипа близо 3 години.



Изводите от изследването ви преподахме в първия текст (стр. 38), а тук ще ви покажем как точно става в лабораторията разобличаването на Е-тата като убийци.

Методът, който прилагат учените, в случая е използван за определяне на количеството и вида увреждане на ДНК, причинявано от добавките в храните, означавани с Е. Но с този метод могат да се тестват всички видове „подозрителни“ субстанции, които имат досег с живи клетки. Затова е приложим при изследването на въздуха, бои, козметични продукти, дори за установяване на радиоактивно замърсяване. Нарича се „Кометен тест“, защото за разлика от здравата ДНК, която остава цяла в клетъчното ядро, увредената излиза от него и под микроскоп се вижда като комета с опашка.

В случая тестът е прилаган върху

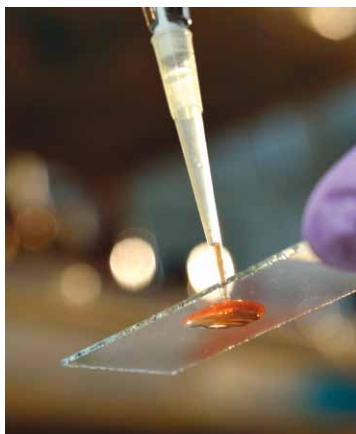
клетъчна култура от грозди, защото са достъпни и много чувствителни към химикали. Но тестът е приложен и върху човешки клетки, а после резултатите са сравнени. Валидността му е еднаква, защото, независимо дали е човешка, или не, клетката си е клетка – устроена е и функционира по един и същи начин и се влияе от химически агенти. Методът е известен отдавна и се прилага широко. Но доц. Милошев така е усъвършенствал дизайна му, че го е направил много почувствителен.

▲  
Милена Георгиева  
добавя разтвор на  
червен оцветител  
към клетките.

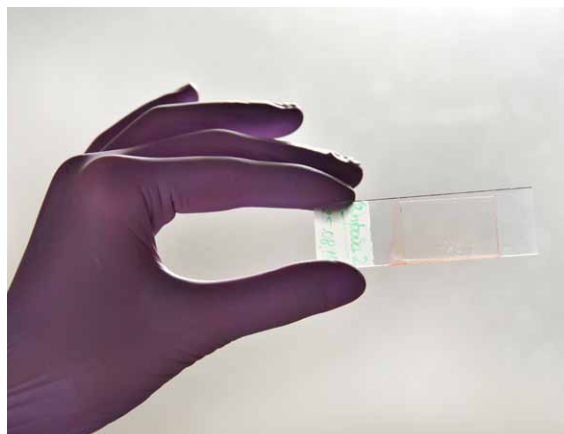
**С усъвършенствания метод се изследват всякакви подозрителни вещества.**



1.



2.



3.



1. Към клетъчната култура с оцветител се добавя бързо полимеризиращ гел.
2. „Сместа“ се разстила с пипета върху предметно стъкло.
3. Гелът се разпределя между двете стъкла в равномерен тънък филм.

За неспециалиста Лабораторията по молекулярна генетика е джунгла от апарати с жици, тръбички, стъкленици, всевъзможни съдчета, кутийки и пипети. Облечените в бели престилки Милена Георгиева, Десислава Станева, Борислава Ботева, Тони Ефремов и Джулия Милчева се движат така уверено из тази джунгла, все едно са си вкъщи. С едва доловимо движение Милена успява да отмери точно една капка, а пипетата я слуша, сякаш е естествено продължение на ръката ѝ. Няма нерви, няма напрежение. „Така е, когато работата ти е и хоби“, казват те.

## ПО ПРОТОКОЛА

И така, тръгваме по протокола на изследването. Ще станем свидетели на въздействието върху ДНК на две Е-та - оцветители на хранителни продукти – син и червен.

В **първия етап** от експеримента клетките се поставят в хранителна среда (съдържа най-общо вода, захар и протеинов екстракт) и в продължение на 2-3 часа престояват в апаратура, която им осигурява оптимални условия за растеж – 30 градуса и аерация. Целта на този етап е при оптимални условия за развитието им клетките да се

размножат до точно определен брой, който се приема за 100%. Спрямо него ще се определи процентът на клетките с увредена от Е-то ДНК. По-късно, във финалния етап на изследването след статистическата обработка на данните от специализиран софтуер, учените ще проверяват колко висок е този процент.

Във **втория етап** към клетките, докато са още в хранителната среда, се добавя химикалът, чието въздействие се изследва – в случая Е-оцветител. Той е във вид на пудра, както го купуват и производителите. Разтваря се във вода. Този разтвор на Е е с определена концентрация. Експериментът се провежда с различни концентрации – нормативно приетата за безопасна, по-високи от нормативната и няколко много по-ниски. Изследването се повтаря с постепенно намаляваща концентрация на разтвора на Е-то, за да се проверят концентрации до 10 и дори 100 пъти по-ниски в сравнение с нормативно приетата. Има и контрола – при нея към клетките не се добавя разтвор на Е, а чиста вода в количество, колкото е разтворът на Е в другите колби. За да са сигурни в получения резултат, учените провеждат изследването за всяка концентрация многократно.



4.



5.

## КЪДЕ Е ГРАНИЦАТА

Целта на този етап от изследването е да се определи къде е границата, при която веществото престава да има вреден ефект. Под тази т.нар. „прагова стойност“ няма увреждане на ДНК, над нея има. Учените установяват, че за някои вещества праговата стойност е 10 пъти по-ниска от сега приетата за нормативна, а за други – 100 пъти. Т.е. и многократно по-малко количество Е от сега разрешеното уврежда ДНК.

**Третият етап** от изследването е, когато така получената „смес“ от клетки и Е-та пак се връща за култивиране в апарата, който поддържа оптималните условия за живот на клетките и постоянно ги разклаща. Това продължава часове наред. Целта е да се види дали и как добавеното вещество (Е в случая) ще повлияе на жизнеспособността, растежа и размножаването на клетките. Учените установяват, че оцветителите имат изключително пагубно въздействие върху жизнеспособността на клетките – в някои концентрации имат толкова силен цитотоксичен ефект, че между 50 и 70% от клетките умират. Най-силно е негативното въздействие на индиго кармина (Е 132), еритрозина (Е 127) и особено на фаст грин (Е 143). (Впрочем

цитотоксичният ефект на еритрозина се проучва за първи път именно в рамките на това изследване върху Е-тата.)

**Четвърти етап:** Клетъчната култура, към която е добавено Е, се смесва с бързо полимеризиращ гел. Определено количество от тази смес, отмерено с пипета, се капва върху предметно стъкло, за да се „разстеле“. Захлупва го друго, за да се запечата. Между двете стъкла гелът се разпределя равномерно в тънък филм. В него ДНК ще се движи под влияние на електричното поле в следващия етап от изследването – ДНК електрофореза.

## ДНК ПОД НАПРЕЖЕНИЕ

**Петият етап** е този, който нарекохме „граматичен“. При него предметното стъкло с гела (покривното стъкълце е махнато) се поставя в специален апарат за ДНК електрофореза за 20 минути. При този процес под въздействието на електрическото поле, ако има скъсвания в ДНК, тя ще се придвижи към положителния полюс. Затова се вижда разтеглена като опашка на комета. А здравата ДНК си остава в ядрото. Дали ще се появи този ефект? За изследователите, които в този момент още не виждат резултата, е ясно,

4. Предметното стъкло се поставя в апарат за ДНК електрофореза.

По въздействието на електрическото поле увредената ДНК ще се изтегли към положителния полюс.

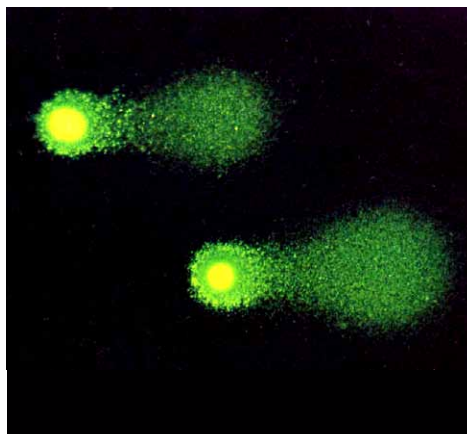
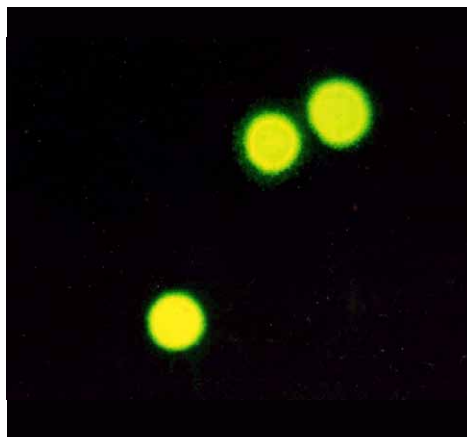
5. След електрофорезата гелът се фиксира в специален разтвор.



Милена Георгиева наблюдава под микроскоп коя ДНК е здрава и е останала цяла в ядрото на клетките и коя е увредена и е излязла извън него.

Вдясно горе: ДНК в ядрата на здрави клетки.

Вдясно долу: две клетки, третираны с генотоксин - той е накъсал ДНК и тя е излязла от ядрата.



че това са критичните 20 минути, през които ДНК ще се сгърчи по точно определен начин в зависимост от това дали е била увредена, или не. Затова за учените това е време на нетърпеливо очакване.

В **шестия етап** предметното стъкло се вади от апарата за ДНК електрофореза и се потапя в специален разтвор, за да се фиксира гелът. Така може да се съхранява с години и изследователите могат да го използват, за да повтарят анализа, а ако някой се интересува - да види с очите си колко ДНК се е увредила и колко е оцеляла.

## МОМЕНТЪТ НА ИСТИНАТА

В **седмия етап** предметното стъкло с фиксирания гел се поставя в специален микроскоп, за да се наблюдава дали ДНК е в ядрото, или се е разтеглила като комета. Точно това е моментът на истината, когато изследователите за първи път виждат с очите си какво се е получило.

Обработката на данните е **финалният етап** на изследването. Досегашните методи определят какъв процент е увредената ДНК. Но екипът на доц. Милошев е разработил специален софтуер, който освен това прави и още нещо - само по вида на кометата може да определи характера на увреждането – накъсване на едната или на двете ѝ нишки. Повечето поражения върху ДНК са опасни за клетката и организма като цяло, особено когато увреждането е в двете нишки. Те могат да доведат до смърт на клетката или да предизвикат рак. „Работата ни негду-смислено доказва, че изследваните от нас Е-та са генотоксини. Те увреждат ДНК, като я накъсват или като модифицират различни химични групи в нея. Модификациите в ДНК могат да се предават в поколението незабелязано и да доведат до натрупване на увреждания и в него. В нашето изследване го наблюдавахме пряко –

добавките увреждат и старото, и новото поколение клетки, като различните Е-та влияят в различна степен и по различен начин“, казва доц. Милошев. Освен за генотоксичност при изследваните Е-та е проверено дали са цитотоксични и дали потискат растежа на клетъчната култура. И двете се потвърждават.

И все пак, кой момент в изследването беше най-възбуждаващ? „Нетърпението е най-голямо, когато планираме и провеждаме нови експерименти, защото резултатът е неизвестен. Но в случая с Е-та не беше точно така, защото знаех, че са вредни. Изненадата не дойде от това, а от мащабите на пораженията, които нанасят дори минималните количества

## Е-тата потискат растежа на клетките, увреждат и поколението им.

Е, които тествахме. Много е възбуждаващо и когато попадаме на нещо ново и интересно или сме успели да разберем някакъв процес. А удоволствието е най-голямо, когато откриваме непознат досега феномен, което отваря нова посока на разсъждения и поле за още експерименти. Така е, защото ученият е любопитен към природата човек. Ако не е такъв, значи не е учен“, казва доц. Милошев.

От ляво на  
дясно: Десислава  
Станева, Джулия  
Милчева и  
Борислава Ботева  
подготвят  
експеримента.

