

Резюме

Исследован видовой состав представителей рода *Bifidobacterium* содержимого кишечного тракта людей пожилого возраста. Установлено, что их кишечная бифидофлора представлена в основном видами *B. catenulatum* (доминирующий вид), *B. longum*, *B. adolescentis*, *S. inopinatum*. У людей старческого возраста наблюдается уменьшение видового разнообразия бифидобактерий.

Досліджено видовий склад представників роду *Bifidobacterium* вмісту кишечного тракту людей похилого віку. Встановлено, що їх кишкова бифідофлора представлена в основному видами *B. catenulatum* (домінуючий вид), *B. longum*, *B. adolescentis*, *S. inopinatum*. У людей похилого віку спостерігається зменшення видового різномаття бифідобактерій.

Specific diversity of representatives of genus *Bifidobacterium* of seniors' intestinal tract has been investigated. It has been detected that their bifidoflora is represented basically by *B. catenulatum* (dominate species), *B. longum*, *B. adolescentis*, *S. inopinatum*. Decrease of bifidobacterial species diversity has been observed.

**СЕНЧЕНКО Т.В., БОЛТІНА І.В., КОСТИК О.Л., ТКАЧУК О.М.,
ЛЕПЬОШКІН І.В., КРАВЧУК О.П**

*Інститут екологієни і токсикології ім. Л. І. Медведя МОЗ України,
Україна, 03680 Київ, вул. Героїв оборони 6, e-mail: onorina@i.ua*

ОСОБЛИВОСТІ ВИКОРИСТАННЯ КОРОТКОСТРОКОВИХ ТЕСТІВ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ МУТАГЕННОЇ АКТИВНОСТІ ПЕСТИЦИДІВ

Одним з провідних аспектів “віддалених наслідків” несприятливої дії пестицидів є оцінка їх можливого вкладу в індукований мутаційний процес у людини, наслідком якого може бути зріст частоти патології с генетичною компонентою. Тому до актуального напрямку у вивчені біологічного ефекту пестицидів відносять генетико-гігієнічні дослідження, основною метою яких є наукове прогнозування та попередження мутагенної небезпеки пестицидів для здоров’я теперішнього та майбутніх поколінь [3, 6, 11]. Оцінити потенційну мутагенну небезпечність пестицидів неможливо без попередньої оцінки їх токсичної дії на тест-об’єкти.

Метою роботи є розробка підходів до тестування пестицидів в експериментальних умовах. Для цього проводили аналіз даних по вивченню мутагенної активності пестицидних препаратів на трьох основних тестах: на індукцію генних мутацій у *S. typhimurium*/тест Еймса; на індукцію аберацій хромосом в клітинах кісткового мозку мишей *in vivo*; на індукцію аберацій хромосом в культурі лімфоцитів периферичної крові людини *in vitro* без та з метаболічною активацією).

Матеріали і методи

Тест Еймса, суть якого полягає в реєстрації здатності досліджуваної речовини та її метаболітів індукувати генні мутації від ауксотрофності до прототрофності по гістидину у індикаторних штамів *S. typhimurium*, які несуть *his*-мутації і не здатні синтезувати гістидин, проводили методом стандартного чашкового тесту, запропонованого D.M. Maron і B.N. Ames [13]. Мутагенний ефект в даному тесті визначали ступінню кратності перевищення кількості колоній-ревертантів в кожній концентрації над кількістю колоній у контролі (спонтанний рівень реверсій) та, згідно рекомендаціям Л.М. Фонштейну [7] оцінювали як слабкий, середній і сильний.

Культивування лімфоцитів *in vitro* та приготування препаратів хромосом виконували за стандартним напівмікрометодом [12] з модифікаціями, що прийняті в лабораторії мутагенезу [2]. Експеримент по вивченню пестицидних препаратів проводили в двох варіантах — без та з метаболічною активацією. При постановці експерименту з метаболічною активацією разом з препаратом додавали мікосомальну активуючу суміш (S-9 mix), яку готували за методичними рекомендаціями D.M. Maron і B.N. Ames [13]. Відбір метафазних платівок для цитогенетичного аналізу, класифікація та метод обліку аберацій хромосом — загальноприйняті. Статистичну обробку одержаних даних проводили відповідно до критеріїв Ст'юденту [1].

Дослідження метафазних хромосом клітин кісткового мозку проводили на білих нелінійних мишах, самцях за методом H.J. Evans [10]. Під час проведення експерименту тварини утримувались у віварії в стандартних пластикових клітках, при температурі навколишнього середовища 20–22 °С, вологості повітря 50–60%, стандартному світловому режимі “день — ніч”. Відбір піддослідних тварин проводили методом “випадкових чисел” [4]. Досліджувану речовину вводили внутрішньошлунково одноразово за допомогою зонду. Тварин забивали через 24 години після введення досліджуваної речовини. За дві години до забою тваринам внутрішньочеревно вводили розчин колхіцину для припинення поділу клітин на стадії метафази мітозу. Статистичну обробку одержаних даних проводили відповідно до критеріїв Ст'юденту [1].

Результати та обговорення

За весь час роботи лабораторії мутагенезу було досліджено більше 100 пестицидних препаратів.

В тесті Еймса та в тесті на індукцію аберацій в кістковому мозку мишей мутагенні ефекти були виявлені у чотирьох препаратів.

Тест на індукцію аберацій хромосом в лімфоцитах периферичної крові *in vitro* виявився “самим чутливим” по кількості пестицидних препаратів, які проявили мутагенні властивості. Збільшення частоти аберацій хромосом було виявлено у 19 препаратів

Крім частоти аберацій хромосом на метафазних препаратах підраховували частоту анеуплоїдних клітин — явище, при якому клітини організму містять число хромосом, некратне гаплоїдному (ординарному). Підвищення

частоти анеуплоїдних клітин може свідчити про можливий канцерогенний ризик при дії пестицидного препарату на культуру лімфоцитів периферичної крові людини [5, 9, 14]. За час досліджень підвищення частоти анеуплоїдних клітин було виявлено у 10 пестицидів.

Ще одним цитогенетичним показником, на який варто звернути увагу, є мультиаберантні клітини, наявність яких свідчить про зміни в системі репарації [8]. Мультиаберантні клітини виявлені майже у всіх препаратів в найвищих концентраціях, що свідчить про їх потенційну небезпеку.

Слід зауважити, що протягом останнього року став актуальним ще один показник — токсичність пестицидних препаратів при дослідженні їх мутагенних властивостей.

При постановці експерименту в тесті Еймса спершу визначали бактеріотоксичність (критерієм бактеріотоксичності вважали відсутність колоній в двох повторях), “відштовхуючись” від розчинності препарату. При співставленні концентрацій пестицидних препаратів (мається на увазі однієї і тієї ж діючої речовини при дослідженні різних пестицидних препаратів) був зафіксований бактеріотоксичний ефект (зниження діючих концентрацій в дослідженні на мутагенез). В тесті Еймса токсичний ефект був виявлений у 13 діючих речовин різних пестицидних препаратів.

Подібну картину спостерігали і в тесті на індукцію аберацій хромосом в клітинах кісткового мозку мишей *in vivo*. Першою концентрацією вважається $1/2-1/4$ ЛД₅₀. При дослідженні однакових діючих речовин пестицидних препаратів були виявлені різні токсичні властивості (загибель тварин в першій концентрації).

В тесті на індукцію аберацій хромосом в культурі лімфоцитів периферичної крові людини *in vitro* без та з метаболічною активацією були виявлені цитотоксичні властивості у 16 пестицидних препаратів. Показником цитотоксичності вважали зниження мітотичного індексу в культурі лімфоцитів, що відповідає зниженню мітотичній активності лімфоцитів.

Можливо, це пов'язано з тим, що останнім часом з'явилися копії оригінальних препаратів, які називають генериками. Речовина, що діє, в препаратах, як правило, одна і та ж, але при синтезі генериків неминуче з'являються домішки, які змінюють рівень токсичності.

Таким чином, дослідження токсичних властивостей пестицидних препаратів-генериків, мають бути невід'ємною частиною досліджень мутагенної активності цих речовин, тому що, токсичний ефект (*toxic — ядовитий, потенційно летальний*) свідчить про можливий потенційний летальний вплив.

Висновки

1. Дослідження токсичних властивостей пестицидних препаратів-генериків, мають бути невід'ємною частиною досліджень мутагенної активності цих речовин, які слід проводити тільки в комплексі із застосуванням не менше трьох тестів, що відображено на схемі щодо вивчення їх мутагенної активності.

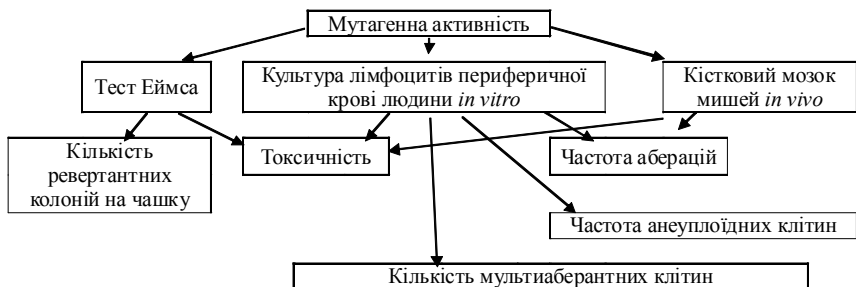


Схема. Вивчення мутагенної активності препаратів-генериків

2. Зниження рівня токсичності концентрацій при дослідженні мутагенної активності пестицидних препаратів-генериків, може бути підставою для перегляду деяких нормативів при застосуванні окремих препаратів.

3. Цитогенетичні показники — кількість анеуплоїдних та мультиаберантних клітин необхідно більш широко використовувати в експериментальних дослідженнях.

Література

1. Атраментова Л.А. Статистические методы в биологии. Учебник для студентов высших учебных заведений / Л.А. Атраментова, О.М. Утевская.— Горловка: “Видавництво “Ліхтар”, 2008.— 247 с.

2. А.с. (Свідоцтво про державну реєстрацію прав автора на твір) Модифікація методу вивчення мутагенної активності речовин (метафазного аналізу аберацій хромосом в культурі лімфоцитів периферичної крові людини) *in vitro* з метаболічною активацією / Болтіна І.В. №23794, заяв. 21.12.2007; опубл. 05.03.2008.

3. Куринный А.И. Оценка пестицидов как мутагенного фактора окружающей среды: автореф. дис на соискание науч. степени доктора биол. наук: спец. 030015 “Генетика” / А.И. Куринный.— Москва, 1986.— 39 с.

4. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария, Б.В. Западнюк.— К.: Вища освіта, 1983.— 383 с.

5. Назаренко С.А., Сравнительный анализ частоты анеуплоидии в покоящихся и делящихся клетках человека при воздействии вредных внешнесредовых факторов / С.А. Назаренко, В.А. Тимошевский // Генетика.— 2005.— Т.41, №3.— С. 391–395.

6. Порошенко Г.Г. Экогенетические аспекты мутагенеза и их изучение в модельных системах : автореферат дис. на соискание науч. степени доктора биол. наук: спец. 030015 “Генетика” / Г.Г. Дорошенко.— Москва, 1998.— 38 с.

7. Фонштейн Л.М. Методы первичного выявления генетической активности загрязнителей среды с помощью бактериальных тест-систем. (Методические указания) / Л.М. Фонштейн, С.К. Абилов, Е.В. Бобринев.— Москва: Производственно-издательский комбинат ВИНТИ 1985.— 34 с.

8. Худoley В.В., Мизгирев И.В. Пути развития и перспективы экологической онкологии / В.В. Худoley // Вопросы онкологии.— 1997.— Т.43, №1.— С. 116–119.

9. *Duesberg P., Rasnick D.* Aneuploidy, the somatic mutation that makes cancer a species of its own / P. Duesberg, D. Rasnick // *Cell Motility and Cytoskeleton*.— 2000.— V.47.— P. 81–107.

10. *Evans H.J.* Cytological methods for detecting chemical mutagens. / H.J. Evans // *Chemical mutagens: principles and methods for their detection*.— 1976.— V.4.— P. 1–29.

11. *Flemiry L.* Mortality in a cohort of licenced pesticide applicators in Florida / L. Flemiry, J. Bean, M. Rudolph // *Occup. and environ. Med.*— 1999.— 56.— №1.— P. 14–21.

12. *Hungerford D.A.* Leucocytes cultured from small inoculate of whole blood and preparation metaphase chromosomes by treatment with hypotonic KCl / D.A. Hungerford // *Stain Techn.*— 1965.— V.40.— P. 333–338.

13. *Maron D.M.* Revised methods for the Salmonella mutagenicity test / D.M. Maron, B.N. Ames // *Mutation Research*.— 1983.— V.113.— P. 173–215.

14. *Sen S.* Aneuploidy and cancer / S. Sen // *Opinion Oncology*.— 2000.— V.12.— P. 82–88.

Резюме

Исследование токсичных свойств пестицидов должно быть частью исследований мутагенной активности. Исследование следует проводить только в комплексе с применением не менее трех тестов.

Дослідження токсичних властивостей пестицидів мають бути частиною досліджень мутагенної активності. Дослідження слід проводити тільки в комплексі з застосуванням не менше трьох тестів.

Research of toxic properties of pesticides must be part of researches of mutagenicity. Research it is necessary to conduct only in a complex with application no less than three tests.

ТАЛАН О.О., ШЕМЕТУН О.В., ПЕДАН Л.Р., ПІЛІНСЬКА М.А.

ДУ “Науковий центр радіаційної медицини АМН України”,

Україна, 04050, Київ, вул. Мельнікова, 53, e-mail: okstal@ukr.net

ВПЛИВ ВІКУ НА ЧАСТОТУ СПОНТАННИХ АБЕРАЦІЙ ХРОМОСОМ В ЛІМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЛЮДИНИ

Протягом останніх років відмічається зростання популяційних частот спонтанних аберацій хромосом в лімфоцитах периферичної крові людини. Дані щодо рівня хромосомних аберацій в неекспонованих групах людей вважаються вихідними під час оцінки цитогенетичного ефекту, індукованого виробничними чи екологічними мутагенами [1]. Це обумовлює актуальність оцінки спонтанного мутаційного процесу в клітинах людини на цитогенетичному рівні в післячорнобильський період.