

ющую природную среду. Исследования токсического действия отходов проводятся на кладках большого прудовика (*Lymnaea stagnalis*). С помощью данной тест-модели возможно исследовать отходы различных агрегатных состояний, содержащие водорастворимые и водонерастворимые компоненты.

Схема исследования включает предварительный и основной этапы эксперимента.

Предварительный эксперимент проводится с целью выявления биологически эффективных концентраций. В эксперименте используются синхронизированные кладки моллюска, содержащие эмбрионы преимущественно в стадии гастролы. В экспериментальную посуду помещают по 4 четвертинки кладки и добавляют по 10 мл исследуемого раствора. Длительность предварительного этапа составляет приблизительно 5 суток. По окончании этапа проводят визуальную оценку гибели эмбрионов, аномалий зародышевого развития. При отсутствии гибели и аномалий развития ориентируются на отставание в развитии эмбрионов. Отставание в развитии регистрируют, ориентируясь на лидирующие в развитии эмбрионы, обязательно присутствующие в контрольной группе. Значимым считается отставание на 2 и более стадии относительно лидеров (нормы).

В основном эксперименте тестируют отход в интервале биологически эффективных концентраций. Основной эксперимент выполняется в не менее, чем в трех повторностях. В основном эксперименте должно быть исследовано не менее 5 доз испытуемого отхода (токсиканта), в случае, если необходимо рассчитать средне-эффективную концентрацию (EC_{50}) и максимальную недействующую концентрацию. Анализ нарушений эмбриогенеза моллюсков проводят по окончании 3, 5 и 7-х суток инкубации (до начала выклева). Долю выклюнувшихся особей определяют по окончании 1, 3 и 5-х суток появления молоди моллюсков.

В результате основного этапа эксперимента учитывают следующие оценочные показатели: % успешного выклева, угнетение выклева в % относительно контроля. На их основании рассчитываются параметры токсичности для оценки отходов. Средне-эффективная концентрация (EC_{50}) рассчитывается по эффекту угнетения выклева с применением регрессионного анализа методом наименьших квадратов. Максимальная недействующая концентрация рассчитывается с применением методов непараметрического сравнительного анализа для отнесения отхода к «неопасным». Ранжирование по классам опасности проводится по значениям параметров токсичности.

Boris O. A., Shevtsova S. N., Gomolko T. N., Petrova S. Y., Shilova A. A.

STUDY OF TOXIC EFFECT OF WASTE AT THE EMBRYONIC STAGE OF GREAT POND SNAIL *LYMNAEA STAGNALIS*

The investigation of toxic effect of waste are carried out at the great pond snail *Lymnaea stagnalis* clutches. We have investigated waste impacts on the embryogenesis and hatching efficiency of pulmonary gastropod mollusk *Lymnaea stagnalis* under laboratory conditions.

Булатовский А. Б.¹, Биричевская Л. Л.², Зинченко А. И.^{1, 2}

¹Международный государственный экологический институт имени А.Д. Сахарова

Белорусского государственного университета,

²Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь

«ЗЕЛЕНый» СИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ МЕДИ

Специфические свойства наночастиц меди открывают широкие возможности для создания новых композиций для медицины, сельского хозяйства, эффективных катализаторов, сенсорных систем и др. Успехи в получении и использовании наночастиц меди в значительной мере зависят от возможностей методов синтеза – от того, позволяет ли выбранный метод получать стабильные наночастицы заданного размера, в течение длительного времени сохраняющие высокую химическую и биологическую активность.

Экологически безопасный синтез («зеленая химия»), получил значительное внимание в развитии нанотехнологий, так как для синтеза нанопродукта не требуется применение вредных и отравляющих веществ. Есть несколько критериев по которым синтез является «зеленым». Согласно одному из критериев, биологический материал, такой как бактерии, грибы, белки и пептиды, ДНК, должен быть применен как платформа для синтеза нанопродукта.

В настоящей работе, мы проводили синтез наночастиц меди тремя «зелеными» способами с использованием: ДНК, желатина и ПЭГ-6000. Основным восстановителем в этих реакциях выступала аскорбиновая кислота, а источником наночастиц меди являлись растворы CuSO_4 или CuCl_2 . Первый синтез был проведен без использования ДНК и стабилизаторов. Он включал в себя такие компоненты, как 100 мкМ CuSO_4 , 1 мМ аскорбиновой кислоты и 10 мМ MOPS (pH 7,5). В результате продолжительного синтеза (около 1–2 суток) формировались нестабильные наночастицы с временем существования около 5 суток.

Второй вариант синтеза проводили с использованием матрицы – плазмидной ДНК (пДНК) в качестве дополнительного восстановителя и стабилизатора наночастиц. Реакция протекала быстро (за 20–30 мин) и включала: 100 мкМ CuSO_4 , 1 мМ аскорбиновой кислоты и 10 мМ MOPS (pH 7,5), 0,5 мкМ пДНК. Таким образом, были получены армированные цепью пДНК наночастицы меди, устойчивые в растворе более одного месяца.

В третьем варианте синтеза в качестве стабилизатора вместо ДНК использовался желатин. Процесс образования наночастиц протекал также быстро, как и с пДНК. Реакционная смесь состояла из 300 мкМ CuSO_4 , 10 мМ аскорбиновой кислоты и 1% раствора желатина. Наночастицы меди получались такие же стабильные, как и в предыдущем варианте.

Для обнаружения наночастиц в смесях, использовали УФ-спектрофотометрическое сканирование растворов наночастиц в диапазоне 300–700 нм.

В результате проведенных экспериментов были синтезированы наночастицы с использованием безопасных для окружающей среды реагентов. Полученные препараты наночастиц меди могут быть применены в экспериментах по изучению процессов доставки плазмидной ДНК в клетки-мишени.

Bulatovski A. B., Birichevskaya L. L., Zinchenko A. I.

“GREEN” SYNTHESIS OF COPPER NANOPARTICLES

In the present paper, we conducted the copper nanoparticles synthesis in three “green” ways of using: DNA, gelatin and polyethylene glycol 6,000. Basic reducing agent in these reactions was ascorbic acid, a copper nanoparticles source was CuSO_4 or CuCl_2 solution.

Горгун Ю. С., Шпадарук Е. М., Смолякова Р. М.

*Международный государственный экологический институт имени А.Д. Сахарова
Белорусского государственного университета, г. Минск, Республика Беларусь*

ОЦЕНКА МУТАЦИОННОГО СТАТУСА ОНКОПРОТЕИНА P53 И ПРОЛИФЕРАТИВНОГО Ki-67 У ПАЦИЕНТОВ, СТРАДАЮЩИХ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО

На данный момент рак легкого по-прежнему является ведущей причиной смертности в большинстве развитых стран мира. С каждым годом новообразования лёгкого диагностируются примерно у 1,2 миллиона человек, и более 1 миллиона жителей планеты погибают от рака легкого.

Целью работы является определение уровней экспрессии мутантного онкопротеина p53 и пролиферативного Ki-67 у пациентов, страдающих немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ).

Материалом послужили данные о пациентах, страдающих немелкоклеточным раком легкого, находящиеся на специальном лечении в РНПЦ ОМР имени Н.Н. Александрова.

Пациентам, включенным в исследование, проводилось иммуногистохимическое определение экспрессии супрессорного мутантного маркера апоптоза p53 и пролиферативного маркера Ki-67 с применением реагентов DAKO (Дания).

Иммуногистохимическое исследование проводилось на фиксированных в формалине и заключенных в парафин опухолевых блоках.

Результаты. Экспрессию мутантного онкопротеина p53 и пролиферативного Ki-67 определяли у 110 (97,3%) пациентов.

При иммуногистохимической оценке опухолевых клеток у пациентов, страдающих немелкоклеточным раком легкого выявлена экспрессия супрессорного мутантного протеина p53 в 49,5% случаев. Результаты проведенных исследований показали, у 52,7% пациентов отсутствовала ядерная реактивность с антителами или количество окрашенных клеток было менее 5%, слабая позитивная экспрессия мутантного онкопротеина p53 (окрашивание 6–30% опухолевых клеток) обнаружена у 9,1% пациентов, у 14,5% пациентов наблюдалась умеренная экспрессия протеина p53 (ядерное окрашивание от 30 до 70% опухолевых клеток), гиперэкспрессия мутантного онкопротеина p53 (позитивное окрашивание 71–100% опухолевых клеток) детектирована у 23,6% пациентов.

При оценке пролиферативной активности опухолевых клеток у больных НМРЛ установлено, что положительная реакция по Ki-67 наблюдалась в 52 (48,6%) случаях. Высокой пролиферативной активностью обладали 20,6% опухолей от общего их количества.