

**ОЦЕНКА МУТАГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ КОМБИНАЦИИ  
ФОРМАЛЬДЕГИДА И СТИРОЛА**  
**ASSESSMENT OF MUTAGENIC ACTION OF COMBINATION  
FORMALDEHYDE AND STYRENE**

**Р. В. Богданов, Ю. А. Соболев, О. А. Емельянова, В. М. Василькевич**  
**R. Bogdanov, Y. Sobol, O. Emeliyanova, V. Vasilkevich**

*Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены»,  
г. Минск, Республика Беларусь  
7\_rus@tut.by*

*Republican unitary enterprise «Scientific practical centre of hygiene», Minsk, Republic of Belarus*

По результатам экспериментов оценена мутагенная активность комбинации формальдегида и стирола, которые являются распространенными загрязнителями производственной среды.

Based on the results of the experiments, the mutagenic activity of a combination of formaldehyde and styrene, which are common pollutants of the production environment is estimated.

*Ключевые слова:* формальдегид, стирол, генотоксичность.

*Keywords:* formaldehyde, styrene, genotoxicity.

Производственная среда характеризуется многокомпонентным загрязнением вредными химическими веществами, источником выделения которых является сырье, технологические добавки, промежуточные и конечные продукты производства. К числу широко распространенных комбинаций вредных химических веществ в нефтехимической промышленности, машиностроении, производстве строительных материалов и других отраслях относятся формальдегид и стирол. Установлено, что в хроническом эксперименте при совместном влиянии на организм лабораторных животных формальдегид и стирол усиливают общетоксическое действие друг друга, что проявляется потенцирующим характером их комбинированного действия. При оценке риска для здоровья при комбинированном воздействии токсикантов международными требованиями к изучению безопасности химических соединений предусматривается необходимость изучения мутагенных свойств. Как известно, в концентрациях выше пороговых при изолированном воздействии формальдегид и стирол проявляют генотоксические свойства, в то же время при комбинированном воздействии на низких уровнях их мутагенная активность не установлена.

Для оценки мутагенной активности использовали тест Эймса. Объектом исследования служили растворы стирола и формальдегида в концентрации веществ с интервалом  $\frac{1}{2} \lg (\sqrt{10})$  между тестируемыми точками: 5,0; 1,25; 0,31; 0,078; 0,020 мкг/мл. Аналогичные концентрации веществ были использованы и для исследования комбинации формальдегида и стирола. При наличии мутаций у индикаторных штаммов можно предположить о способности смеси формальдегида и стирола индуцировать генные мутации (замена пар оснований в молекуле ДНК или сдвиг рамки считывания генетического кода). Исследование проводили с использованием набора EBP1's Muta-ChromoPlate™ с системой полной метаболической активации *in vitro* и без метаболической активации. В качестве тест-модели использовали штамм *Salmonella typhimurium TA 100*, несущий мутации аутокотрофности по гистидину и позволяющий выявлять мутации типа замены пар оснований. Наличие мутагенного эффекта регистрировали по индукции реверсий от аутокотрофности по гистидину к прототрофности у используемых штаммов. В качестве позитивного контроля использовали азид натрия – соединение, индуцирующее мутации у тест-штамма, в концентрации 0,5 мкг/100 мкл. В качестве негативного контроля, позволяющего оценить уровень спонтанных мутаций тест-культуры, выступала дистиллированная вода. По результатам эксперимента потенциальной мутагенной активности комбинации формальдегида и стирола в изученных концентрациях в тесте Эймса на штамме *S. typhimurium TA 100* в условиях без метаболической и с метаболической активацией не установлено.

Исследование генотоксического действия проводили на белых крысах в условиях 30-суточного эксперимента при ингаляционной воздействию формальдегидом в концентрации  $5,1 \pm 0,3$  мг/м<sup>3</sup>, стиролом –  $50,2 \pm 1,9$  мг/м<sup>3</sup> и их комбинацией в соответствующих концентрациях. Генотоксичность оценивали по степени фрагментации ДНК, которую выделяли из ткани печени лабораторных животных. Электрофорез проводили в аппарате Sub-Cell Model 192 Cell («Bio-Rad», США). Визуализацию ДНК после проведения электрофореза осуществляли в проходящем ультрафиолетовом свете, используя систему «ChemiDoc» («Bio-Rad», США). По результатам изучения генотоксического действия формальдегида, стирола и их комбинации установлено, что ДНК, выделенная из ткани печени крыс контрольной группы мигрировала в виде цельной высокомолекулярной полосы, с длиной фрагментов более 10000 пар оснований. При анализе ДНК, выделенной из ткани печени подопытных групп, на гель-электрофореграмме отсутствовали раз-

ривы ДНК. Таким образом, комбинация формальдегида и стирола в указанных концентрациях не оказывала фрагментирующий эффект на ДНК, что позволяет говорить об отсутствии генотоксического действия в данном тесте.

## АНАЛИЗ МОДИФИЦИРОВАННОГО ГЕМОГЛОБИНА ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ПРОТЕОМИКИ «TOP-DOWN»

### ANALYSIS OF THE HUMAN GLYCHEMOGLOBINE BY THE PROTEOMICS «TOP-DOWN» METHOD

**О. Ю. Богданова<sup>1</sup>, А. А. Набоков<sup>1</sup>, Е. Я. Рута-Жуковская<sup>2</sup>,  
В. Э. Сяхович<sup>1,2</sup>, С. А. Беляев<sup>2</sup>, С. Б. Бокуть<sup>1</sup>  
O. Bogdanova<sup>1</sup>, A. Nabokov<sup>1</sup>, E. Ruta-Zhukovskaya<sup>2</sup>,  
V. Syakhovich<sup>1,2</sup>, S. Beliaev<sup>2</sup>, S. Bokut<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,  
г. Минск, Республика Беларусь  
bokut\_sergey@mail.ru

<sup>2</sup>Национальная антидопинговая лаборатория  
аг. Лесной, Республика Беларусь  
vit\_7778@mail.ru

<sup>1</sup> Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

<sup>2</sup>National Anti-Doping Laboratory, Lyasny, Republic of Belarus

На примере основной формы гемоглобина HbA<sub>1</sub> и гликозилированного варианта HbA<sub>1c</sub> с использованием хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения, включающей процедуру протеомики «top-down» разработаны подходы масс-спектрометрического анализа гемоглобина для последующего ее применения в обнаружении структурных вариантов гемопротеида, образующихся в ходе посттрансляционных неферментативных модификаций различной природы.

Based on the hemoglobin HbA<sub>1</sub> form and the glycosylated variant HbA<sub>1c</sub> using high-resolution chromatography-mass spectrometry with top-down proteomics, approaches have been developed for the mass spectrometric analysis of hemoglobin structural variants formed during the post-translational non-enzymatic modifications.

*Ключевые слова:* основная форма гемоглобина человека; гликозилированный гемоглобин HbA<sub>1c</sub>; хромато-масс-спектрометрия; деконволюция масс-спектров.

*Keywords:* main form of human hemoglobin; glycosylated hemoglobin HbA<sub>1c</sub>; chromatography-mass spectrometry; deconvolution of mass spectra.

Тетрамерный гемоглобин человека (HbA) представляет собой ансамбль двух димеров, образованных парой  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц, каждая из которых содержит гем b (Fe – протопорфирин IX). Интерес к изучению его свойств объясняется не только огромной ролью гемоглобина в физиологии дыхания, но и тем обстоятельством, что, являясь относительно простым по строению, он служит прекрасной моделью для изучения нелинейных и кооперативных взаимодействий в белках, состоящих из нескольких субъединиц [1–2].

Минорная форма гемоглобина человека A<sub>1c</sub> является продуктом пост-трансляционной модификации гемоглобина A<sub>1</sub> глюкозой по  $\beta$  и  $\alpha$ -цепям, а также по  $\epsilon$ -аминогруппам боковых цепей аминокислот. Данную модификацию можно рассматривать в качестве белка-маркера одного из наиболее тяжелых заболеваний, которое с годами переросло в эпидемию, а именно сахарный диабет [3]. В настоящее время HbA<sub>1c</sub> используется как общепринятый показатель оценки состояния и степени компенсации углеводного обмена, поскольку позволяет проследить уровень гликемии в широком временном диапазоне.

Несмотря на то что HbA<sub>1c</sub> используется как белок-маркер сахарного диабета, эта минорная форма сама по себе является важным объектом исследования. Например, показано, что углеводная модификация HbA<sub>1</sub> изменяет его способность связывать аллостерические эффекторы, и оказывает существенное влияние на транспортную функцию. Установлено, что HbA<sub>1c</sub> может принимать участие в эффективном генерировании активных форм кислорода способных инициировать окислительный стресс у больных диабетом.

В настоящее время масс-спектрометрия (МС) является одним из самых распространенных методов в исследованиях пептидов и белков. Для идентификации белков по масс-спектрам используют два метода: поиск по базам данных и секвенирование *de novo*. При масс-спектрометрическом анализе пептидов и белков различают три подхода: «top-down», «middle-down» и «bottom-up». «Top-down» – установление точной структуры белков исклю-