

1025, несущие плазмиды pAL1 и pNL10 фактически не способные нормально размножаться в жидкой среде с нафталином.

Следующий этап работы был посвящен изучению динамики роста плазмидсодержащих бактерий в модельных почвенных системах. Для работы были отобраны три штамма, содержащие плазмиду pAL1: *P. putida* KT2442 и *P. mendocina* PM2, как наиболее быстро растущие, и штамм *P. stutzeri* B975, характеризующийся средней скоростью роста. В почвенные образцы (100 г.), содержащие нафталин (в концентрации 1г/кг), вносили  $10^6$ – $10^7$  клеток бактерий. В качестве контроля использовали почву с нафталином, в которую бактерии не вносились, а также почва без нафталина. Установлено, что исследованные плазмидсодержащие бактерии способны достаточно эффективно размножаться в почве. Наибольшей скоростью роста характеризовался штамм *P. putida* KT2442/pAL1, численность которого увеличилась через 4 дня на два порядка и сохранялась на этом уровне в последующие дни культивирования. Увеличение численности бактерий *P. mendocina* PM2/pAL1 и *P. stutzeri* B975/pAL1 на два порядка регистрировали только на 8 сутки, а на 15 день культивирования наблюдалось снижение числа жизнеспособных клеток в 10 раз. При этом бактерии *P. putida* KT2442/pAL1 характеризовались и наибольшей эффективностью утилизации нафталина. Уже на 8 день концентрация нафталина в образце почвы с данными микроорганизмами снижалась до уровня контроля (почва без нафталина). В то же время образцы почвы с инокулированными штаммами *P. mendocina* PM2/pAL1 и *P. stutzeri* B975/pAL1 на 15 день культивирования содержали нафталин.

Таким образом, из приведенных данных, можно заключить, что наиболее оптимальными бактериальными хозяевами плазмиды pAL1 из всех исследованных штаммов являются бактерии *P. putida* KT2442, характеризующиеся высокой скоростью роста на плотной и в жидкой среде с нафталином, а также обеспечивающие полную деградацию нафталина в почве за 7 дней. Данные микроорганизмы можно рассматривать как потенциальный штамм-деструктор, который не только имеет положительную динамику роста в почвенной системе и эффективно деградирует нафталин, но и является потенциальным донором плазмиды pAL1 для переноса почвенным бактериям, повышая их адаптивный потенциал в условиях загрязнения полициклическими ароматическими углеводородами.

### Литература

1. Sayler G.S., Hooper S.W., Layton A.C. et al. Catabolic plasmids of environmental and ecological significance // *Microbiol. Ecol.*– 1990.– V.19.– P.1–20.
2. Top E., Springael D., Boon N. Catabolic mobile genetic elements and their potential use in bioaugmentation of polluted soils and waters // *FEMS Microbiol. Ecol.*– 2002.– V.42.– P.199–208.
3. Dejonghe W., Goris J., El Fantroussi S. et al. Effect of dissemination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) degradation plasmids on 2,4-D degradation and on bacterial community structure in two different soil horizons // *Appl. Environ. Microbiol.*– 2000.– V.66.– P. 3297–3304.
4. Боронин А.М., Цой Т.В. Генетические системы биodeградации: организация и регуляция экспрессии // *Генетика.*– 1989.– Т.25.– С.581–594.

### **ВЫСОКИЕ ДОЗЫ «ИНАКТИВИРОВАННОГО» НИТРОПРУССИДА НАТРИЯ ИСКАЖАЮТ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПРИ ВНУТРИКИШЕЧНОМ И ИНТРАТЕКАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ**

**А.Г. Чумақ, К.М. Люзина, С.А. Руткевич, Т.В. Каравай**  
*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

Нитропруссид натрия, химический донор монооксида азота, удовлетворяющий критериям типичного ксенобиотика [1], широко применяется как в экспериментальных исследова-

ниях, направленных на выяснение сигнальной роли NO в организме, так и в клинической практике для быстрой коррекции гипертензии [2]. По данным поисковой системы PubMed только с 1 января до конца июня 2008 году вышло ровно 500 публикаций, авторы которых применили его в научных исследованиях. Несмотря на то, что в водном растворе на свету или во внутренней среде организма из одной молекулы этого вещества в конечном варианте превращений может выделиться пять цианогрупп и всего одна молекула NO, доступность и возможность корректного легкого контроля эффектов делает этот препарат очень популярным. Действительно, после длительной выдержки в условиях яркого освещения раствор нитропруссид натрия покидает газообразный NO, обладающий всеми свойствами физиологически активного монооксида азота. Остаток раствора, изменивший цвет от оранжевого до синего (из-за изменения валентности железа) не обладает нитрергической активностью. Вместе с тем, в литературе имеется множество указаний на токсическое действие нитропруссид натрия, сообщаемое ему цианидом. Оно может существенно влиять на состояние рецепторов, нейроцитов и функциональных систем организма лабораторных крыс при проведении опытов [3–7]. Поэтому целью работы явился электрофизиологический анализ действия на нервные структуры «инактивированного» светом раствора нитропруссид натрия.

**Материал и методы исследования.** Экспериментальные исследования выполнены на наркотизированных уретаном (500 мг/кг) и нембуталом (30 мг/кг) крысах в 22 острых опытах. Для регистрации импульсной активности афферентных и симпатических эфферентных волокон отводящие электроды располагали на нервных стволах брыжеечного или брюшно-ортального сплетения. ЭКГ (во втором отведении) и электромиограмму межреберных мышц или диафрагмы для анализа интенсивности и частоты дыхания регистрировали игольчатыми электродами. Свежеприготовленный или «инактивированный» (выдержанного при ярком освещении не менее суток) раствор нитропруссид натрия (НПН), вводили в просвет тощей кишки или в ликвор спинного мозга интратекально (Th<sub>8</sub>-Th<sub>12</sub>) через катетер, вставленный в атланта-окципитальную мембрану. Обработка зарегистрированных электрофизиологических данных выполнялась на стандартной компьютеризированной электрофизиологической установке с использованием программы, разработанной в Институте физиологии НАН Беларуси [8].

**Результаты и обсуждение.** В 12 опытах применено три способа доставки НПН к рецепторам кишки – внутрипросветное, внутривенное введение и аппликация на серозную оболочку. Во всех вариантах отмечено усиление импульсной активности в брыжеечных нервах. В частности, инфузия 0,5 мл свежеприготовленного изотонического раствора, содержащего 5 мкг лиганда, в просвет органа, но не инактивированного на свету (контроль) вызывала рост частоты импульсации, который был превышен применением более высокой дозы – 25 мкг (рис. 1, А).

Поскольку контрольный раствор не вызывал достоверных изменений тонической афферентной импульсации, а инъекция «активного», свежеприготовленного раствора нитропруссид натрия постоянно во всех пробах ее усиливала, был сделан вывод о возбуждающем влиянии примененного донора NO на рецепторы тонкой кишки. Аналогичные результаты получены при анализе импульсации афферентных волокон в составе блуждающего нерва под диафрагмой. В этой серии опытов применяли дозу НПН, равную 5 мг/0,5 мл. Вместе с тем, регистрация эффектов «инактивированного» НПН на рецепторы тонкой кишки в высоких дозах выявила и стимулирующее его действие. Оказалось, что после инъекции в кишку неактивного в отношении NO препарата в дозе 5 мг/0,5 мл частота импульсации в брыжеечном нерве длительно поддерживалась на высоком уровне и была снижена только после введения раствора метиленового голубого, блокатора растворимой гуанилатциклазы (рис. 1, Б).

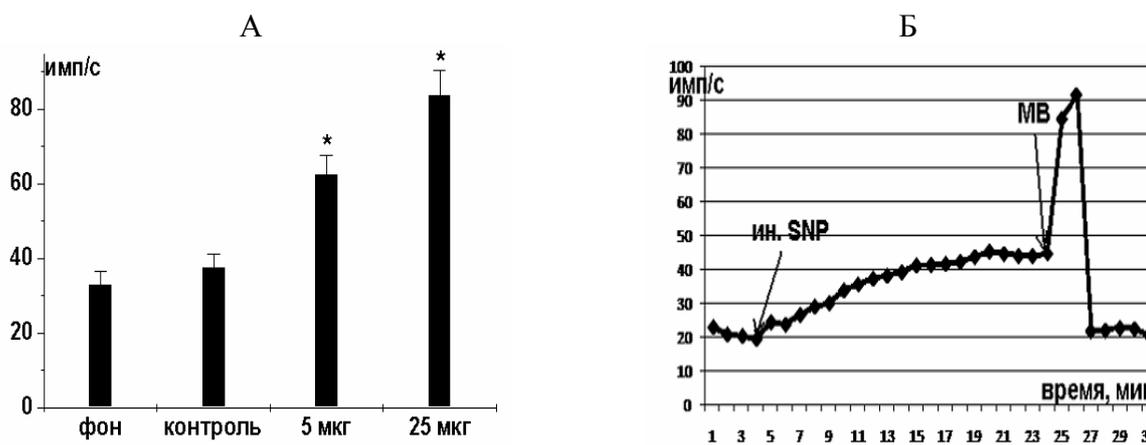


Рис. 1. Изменения частоты афферентной импульсации в брыжеечном нерве после введения раствора НПН в тощую кишку.

А – средние значения частоты, зарегистрированные через 1 мин после введения в полость кишки раствора НПН в дозах 5 и 25 мкг в 0,5 мл изотонического раствора NaCl. \* $P < 0,01$ .

Б – динамика изменения частоты импульсации после введения в кишку инактивированного НПН в дозе 5 мкг/0,5 мл. Средняя фона  $26,6 \pm 2,5$  имп/с, через 15 минут после введения «инактивированного» НПН –  $44,5 \pm 0,5$  имп/с ( $P < 0,01$ ), через 2 мин после введения метиленового синего – 5 мкг/0,5 мл –  $21,7 \pm 0,8$  имп/с.

В специальных опытах, кроме того, установлено, что введение свежеприготовленного раствора нитропруссид натрия (1 и 10 мкг в 20 мкл) в спинномозговой ликвор сопровождалось кратковременным усилением тонической активности эфферентных волокон в составе нервных ветвей брюшно-аортального сплетения. Частота импульсации увеличивалась на пике реакции на  $48 \pm 14$  % ( $P < 0,05$ ), а частота сердечных сокращений – от  $313 \pm 28$  уд/мин до  $333 \pm 31$  уд/мин. Применение «инактивированного» раствора нитропруссид натрия в указанной дозе в отношении частоты сердцебиений, дыхательного ритма и симпатической эфферентной импульсации было неэффективным. Однако неактивный в отношении продукции монооксида азота нитропруссид в дозе 100 мкг в 20 мкл, введенный под оболочки спинного мозга, вызывал длительное угнетение импульсной активности в брюшно-аортальных нервах (от фоновой  $28 \pm 9$  до  $11 \pm 4$  имп/с к 20 минуте), с сопутствующей брадикардией на  $21 \pm 3$  уд/мин и снижением частоты дыхательных циклов от  $60 \pm 3$  до  $48 \pm 6$  в минуту. Симпатотингибирующий эффект был обратимым через 40–50 минут после инъекции препарата.

Введение интратекально в сегменты Th8-Th10 спинного мозга раствора «инактивированного» нитропруссид натрия в дозе 26 мкг/0,1 мл вызывало незначительное увеличение симпатической эфферентной активности и в брыжеечных нервах (до  $52 \pm 1,2$  имп/с при фоновом значении  $39,7 \pm 2,3$  имп/с). Применение «инактивированного» SNP в большой дозе (500 мкг/0,1 мл) приводило к существенному симпатотактивирующему эффекту ( $64,3 \pm 1,2$  имп/с), длящемуся в течение часа, с последующим восстановлением исходной импульсации. При этом наблюдалась тахикардия и непроизвольное выделение содержимого полых органов (признаки легкой и подострой формы отравления цианидами).

Полученные результаты свидетельствуют не только об участии монооксида азота, как сигнальной молекулы, в реализации симпатозбудящих и симпатотингибирующих процессов в спинном мозге. Они указывают на необходимость более осторожного и комплексного подхода при проведении экспериментов по анализу роли NO в физиологических процессах. Поскольку использование нитропруссид натрия в дозах выше 1 мМ может приводить к появлению самостоятельных эффектов в центральной нервной системе, более надежным следует признать расширение спектра применяемых препаратов, включение в фармакологический арсенал экспериментов предшественников (L-аргинин) и ингибиторов NO-синтаз.

## Литература

1. Юрин В.М., Кудряшев А.П., Дитченко Т.И., Яковец О.Г., Крытынская Е.Н. Ксенобиотики. Основные закономерности взаимодействия с ион-транспортными системами плазматической мембраны растительной клетки. Оценка их биобезопасности // Труды БГУ. Серия «Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем». – 2007. – Т.2. – С.5–16.
2. Friederich G.A., Butterworth J.F. Sodium nitroprusside: twenty years and counting // Anesth. Analg. – 1995. – V.81, № 1. – P.152–162.
3. Lipton S.A. Neuronal protection and destruction by NO // Cell Death Differ. – 1999. – V.6, № 10. – P.943–951.
4. Johanning RJ, Zaske DE, Tschida SJ, Johnson SV, Hoey LL, Vance-Bryan K. A retrospective study of sodium nitroprusside use and assessment of the potential risk of cyanide poisoning. // Pharmacotherapy. – 1995. – V.15, № 6. – P.773–777.
5. Wang Y.X., Sun J., Sun M.J. Prophylactic effect of methylene blue against neurotoxicity of sodium nitroprusside // Zhongguo Yao Li Xue Bao. – 1999. – V.20, № 2. – P.185–187.
6. Olgunturk F.R., Yener A., Tunaoglu F.S., Gokgoz L., Aslamaci S. Temporary blindness due to sodium nitroprusside overdosage in a postoperative patient: an unusual adverse effect // Clin Pediatr (Phila). – 1992. – V.31, № 6. – P.380–381.
7. Nakamura Y., Yasuda M., Fujimori H., Kiyono M., Pan-Hou H. Cytotoxic effect of sodium nitroprusside on PC12 cells // Chemosphere. – 1997. – V.34, № 2. – P.317–324.
8. Солтанов В.В., Бурко В.Е. Компьютерные программы обработки электрофизиологических данных // Новости медико-биологических наук. – 2005. – №1. – С.90–96.

## ВЛИЯНИЕ ЗАСОЛЕНИЯ ПОЧВЫ НА СОСТОЯНИЕ РАСТЕНИЙ ЯЧМЕНЯ, ВЫРОСШИХ ИЗ ГАММА-ОБЛУЧЕННЫХ СЕМЯН

**Н.В. Шамаль, В.И. Гапоненко**

*Институт радиобиологии НАН Беларуси, г. Гомель, Беларусь  
shamalnamsi03@rambler.ru*

В последние десятилетия повышение уровня радиоактивного, химического и других загрязнителей окружающей среды в связи с хозяйственной деятельностью человека создает предпосылки для нарушения экологического равновесия популяций. Сложной задачей является оценка результатов совместного действия нескольких повреждающих факторов различной природы. Помимо огромного количества потенциальных мутагенов, одновременно находящихся в окружающей среде, эту задачу усугубляет возможность нелинейных (синергизм, антагонизм) взаимодействий между ними. Целью данного исследования было изучение состояния растений ячменя, выросших из гамма-облученных семян, к засолению почвы.

Объектом исследования являлись растения ячменя (сорт «Гонар»). Семена облучали однократно гамма-лучами  $^{137}\text{Cs}$  на установке «Игур» в дозах 2,5 и 5,0 Гр (мощность – 5,56 сГр/мин). Растения выращивали в полевых условиях в полиэтиленовых пакетах («пакетный метод»), заполненных дерново-подзолистой почвой. Засоление создавали добавлением в почву NaCl (0,7 % от веса почвы). NaCl вносили в два этапа: предпосевное в качестве соли (0,5 %) и на этапе кушения в виде раствора (0,2 %). Семена высевали в верхний слой почвы, не содержащий NaCl, чтобы не подавить их прорастание.

На этапе кушения в условиях пресного фона отмечается положительное действие облучения на физиологические параметры: увеличение высоты растений, накопления сухой биомассы, снижение водного дефицита (табл. 1). В условиях засоления увеличивается водный дефицит в листьях растений, и отмечаются отличия ответной реакции необлученных и облученных растений на засоление. Высота и биомасса у необлученного варианта была выше данных контрольного, а у облученных вариантов ниже аналогичных вариантов пресного фона.