

признано новое соединение – диизонилфталат, химические свойства которого позволяют отказаться от применяемых дибутилфталата и диоктилфталата. Для безопасного обращения продукции изготовленной с применением нового пластификатора, необходимо проведение развернутой схемы токсиколого-гигиенических исследований включая изучение мутагенных свойств в батарее тестов [1].

Цель исследования – изучение потенциального мутагенного действия диизонилфталата в тесте Эймса.

Объектом послужил диизонилфталат – регистрационный № CAS: 28553-12-0, эмпирическая формула $C_{26}H_{42}O_4$, молекулярный вес 418,62 г/моль, плотность 0,97 г/см³. Для проведения теста Эймса использовали штаммы *Salmonella typhimurium* TA 98, TA 100, TA 1535, TA 97 и TA 102 в условиях с метаболической активацией и без нее. В качестве положительных контролей для разных штаммов использовали 2-нитрофлуорен – 10 мкг/чашку (TA 98), 9-аминоакридин – 50 мкг/чашку (TA 97), митомицин С – 0,5 мкг/чашку (TA 102), азид натрия – 5 мкг/чашку (TA 100, TA 1535) и 2-аминоантрацен – 5 мкг/чашку (TA 98, TA 100, TA 1535, TA 97, TA 102). Отрицательным контролем являлся диметилсульфоксид, системы метаболической активации – фракция S9 печени крыс, НАДФ, глюкозо-6-фосфат [2]. Результаты исследований обрабатывали общепринятыми методами статистики.

При изучении мутагенной активности с применением тест-штаммов *Salmonella typhimurium* установлено, что диизонилфталат в концентрациях 0,3 мг/мл, 0,6 мг/мл, 1,3 мг/мл, 2,5 мг/мл, 5,0 мг/мл не вызывает достоверного увеличения числа колоний ревертантов по сравнению с отрицательным контролем в тесте Эймса без метаболической активации и с полной метаболической активацией и не обладает бактериотоксическим и бактериостатическим действием на микроорганизмы. Количество ревертантов в отрицательном контроле с диметилсульфоксидом находилось в пределах колебаний спонтанного уровня. В положительных контролях стандартные мутагены вызывали статистически достоверное увеличение колоний-ревертантов по сравнению со спонтанным уровнем реверсий.

Максимально возможные испытанные концентрации диизонилфталата не обладают потенциальной мутагенной активностью в тесте Эймса на штаммах *Salmonella typhimurium* TA 98, TA 100, TA 1535, TA 97 и TA 102 в условиях с метаболической активацией и без нее.

ЛИТЕРАТУРА

1. Грынчак, В. А. Актуальные проблемы безопасного обращения диизонил фталата / В. А. Грынчак, С. И. Сычик // Труды Белорусского государственного университета. – 2016. – Т. 11, ч. 2. – С. 36–46.
2. OECD guideline for testing of chemicals 471. Bacterial Reverse Mutation Test, (1997). URL: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/1948418.pdf> (date of access: 08.05.2014).

ИЗУЧЕНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ ОКСИМЕТАЛОНА В КЛЕТОЧНЫХ СИСТЕМАХ IN VITRO

STUDY OF THE METABOLIC PROFILE OF OXIMETALONE IN CELLULAR SYSTEMS IN VITRO

И. А. Гулюта¹, А. М. Шингель¹, Я. В. Тихонова², В. Э. Сяхович^{1,2}, С. А. Беляев¹
I. Huliuta¹, A. Shingel¹, Y. Tsikhanava², V. Syakhovich^{1,2}, S. Beliaev¹

¹Национальная антидопинговая лаборатория, аг. Лесной, Республика Беларусь

²Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь
gulyta.ia@antidoping.by

¹National Anti-Doping Laboratory, Lesnoy, Republic of Belarus

²Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

Анаболические стероиды – это фармакологические препараты, которые имитируют действие мужского полового гормона – тестостерона и дигидротестостерона. Они ускоряют синтез белка внутри клеток, что приводит к выраженной гипертрофии мышечной ткани. Разработана и получена клеточная система для изучения метаболического профиля оксиметалона. В ходе исследования были получены ранее известные метаболиты, а также метаболиты, ранее не детектированные в условиях клеточных систем *in vitro*.

Anabolic steroids are pharmacological drugs that mimic the effect of the male sex hormone testosterone and dihydrotestosterone. They accelerate the synthesis of protein inside cells, which leads to severe hypertrophy of muscle tissue. In this study, a cellular system for the study of the metabolic profile of oxymetalone was developed and obtained. In the study, previously known metabolites, as well as metabolites previously not detected in *in vitro* cell systems, were obtained.

Ключевые слова: оксиметалон, сокультура клеток, высокоэффективная жидкостная хроматография, масс-спектрометрия.

Keywords: Oxymetalone, cell coculture, high-performance liquid chromatography, mass spectrometry.

Приоритетной задачей большинства антидопинговых лабораторий является полное исключение возможности применения запрещенных в спорте групп соединений. Это достигается благодаря идентификации долгоживущих метаболитов, имеющих длительные времена окон детектирования. Показательными в данном плане является методика анализа долгоживущего метаболита орал-туринобола, значительно удлинившая срок его детекции.

Использование детекции метаболитов часто значительно увеличивает сроки выявления факта приема препарата, но в тоже время требует использования современных высокочувствительных и прецизионных методов анализа. Цель настоящего исследования – изучение метаболитов I фазы анаболического стероида оксиметалона с использованием различных систем *in vitro*, образованных в результате сокультивирования культур гепатоцитов и фибробластов человека в виде смешанной системы, бислой и сэндвич-системы. Для идентификации широкого спектра продуктов I фазы метаболизма оксиметалона анализ был проведен с использованием жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии высокого разрешения с использованием гибридного масс-детектора LTQ Orbitrap Discovery.

Для выявления наиболее эффективной системы для получения метаболитов оксиметалона были сравнены продукты инкубации оксиметалона в 6 разработанных системах сокультур гепатоцитов и фибробластов: 3 смешанные системы с различным соотношением гепатоцитов и фибробластов, 2 бислой системы и 2 «сэндвич»-системы. Инкубацию целевого соединения в сокультурах гепатоцитов и фибробластов осуществляли в течение 144 ч с отбором проб в начале и спустя каждые 24 ч с начала проведения инкубации.

На основании динамики изменения содержания оксиметалона в течение инкубации в культуре клеток и динамики накопления метаболитов в течении инкубации, нами был выбран ряд оптимальных клеточных систем для изучения метаболического профиля оксиметалона. Наиболее перспективными вариантами модельной системы *in vitro* на основании результатов оказались сокультуры типа «бислой» и «сэндвич»-системы.

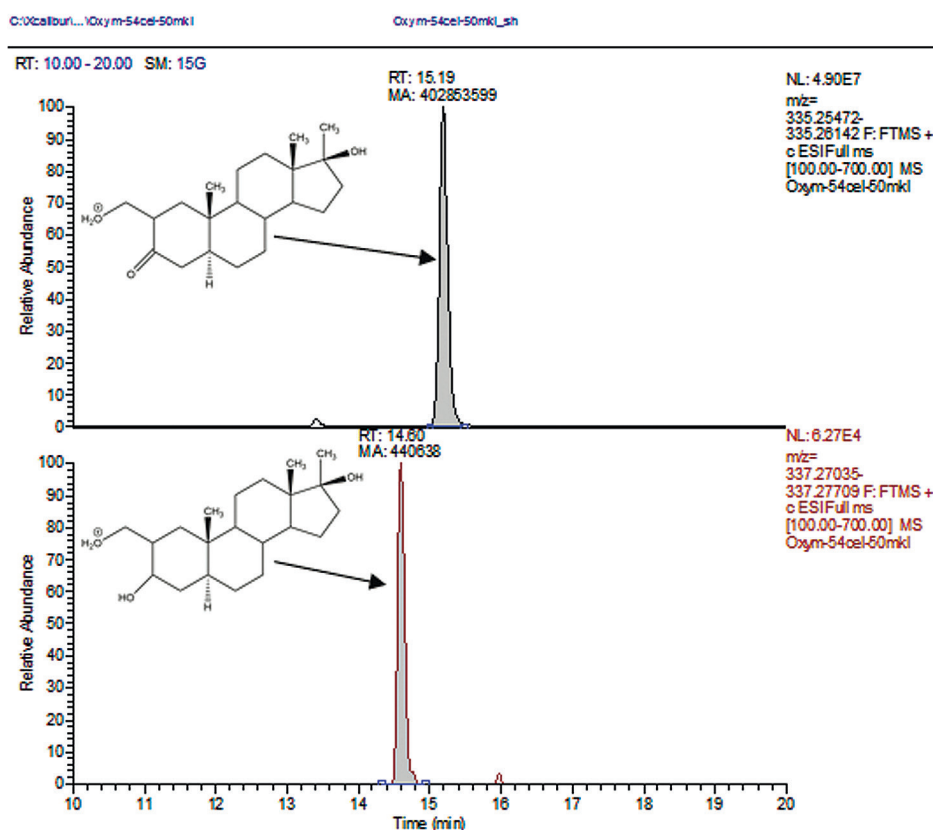


Рисунок 1 – Хроматограмма разделения образца после 54-х ч инкубации оксиметалона с экстракцией по иону OXM-0 с m/z 335,25807±10ppm и иону OXM-I с m/z 337,27372±10ppm

В данном исследовании нами был выявлен широкий спектр метаболитов I фазы оксиметалона представленный OXM-I, OXM-II, OXM-III, OXM-M1, OXM-M2, а также ранее не детектированный в условиях клеточных систем *in vitro* OXM-0. Выявление структурных особенностей полученных метаболитов осуществляли в режиме многостадийного тандемного анализа.

Таким образом, в данном исследовании нами был разработан ряд клеточных систем и выбрана оптимальная система, которая была использована для получения метаболического профиля оксиметалона. Результат

данной работы может быть использован для мониторинга применения запрещенного соединения – оксиметалона в спорте.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Sobolevsky, T.* Mass spectrometric description of novel oxymetholone and desoxymethyltestosterone metabolites identified in human urine and their importance for doping control / T. Sobolevsky, G. Rodchenkov // *Drug Testing and Analysis*. – 2012. – Vol. 4, № 9. – P. 682–691.

2. *Sobolevsky, T.* Detection and mass-spectrometric characterization of novel long-term dehydrochloromethyltestosterone metabolites in human urine / T. Sobolevsky // *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. – 2012. – Vol. 128, № 3–5. – P. 121–128.

ВОЗРАСТНОЙ КОМПОНЕНТ ИММУННОГО СТАТУСА И ВЛИЯНИЕ ЛИМФОТРОПНОЙ ИНФЕКЦИИ НА СООТНОШЕНИЕ НАИВНЫХ ЛИМФОЦИТОВ И ЛИМФОЦИТОВ ПАМЯТИ

AGE COMPONENT OF IMMUNE STATUS AND INFLUENCE OF LYMPHOTROPIC INFECTION ON THE RELATION OF NAVY LYMPHOCYTES AND LYMPHOCYTES OF MEMORY

Е. И. Гусак, Т. Р. Романовская
C. Gusak, T. Romanovskaya

*Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь
gusackkatya@yandex.ru*

Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

Среди показателей иммунного статуса имеется ряд таких, которые определяют реальное соотношение работы иммунной системы на протяжении жизни человека и ее потенциала в будущем. Речь идет о количестве наивных лимфоцитов CD45RA и лимфоцитов памяти CD45RO. Их соотношение обуславливается участием лимфопоэза и иммуногенеза в области формирования пула циркулирующих лимфоцитов периферической крови. Соотношение наивные лимфоциты/лимфоциты памяти обуславливают актив иммунологического опыта организма, что позволяет понять как возможность развития новых иммунных ответов, так и состоятельность лимфопоэза в поле поддержания необходимого уровня антигенраспознающего репертуара лимфоцитов.

Among the indicators of immune status there are a number of such that determine the real ratio of the work of the immune system throughout the life of a person and its potential in the future. This refers to the number of naive lymphocytes CD45RA and lymphocytes memory CD45RO. Their ratio is due to the involvement of lymphopoiesis and immunogenesis in the formation of a pool of circulating lymphocytes of peripheral blood. The ratio of naive lymphocytes / lymphocytes of memory determines the active immunological experience of the organism, which allows to understand how the possibility of developing new immune responses, and the lymphopoiesis consistency in the field of maintaining the required level of antigen-recognizing repertoire of lymphocytes.

Ключевые слова: наивные лимфоциты, лимфоциты памяти, иммунный статус, вирус иммунодефицита человека, возрастной компонент.

Keywords: naive lymphocytes, memory lymphocytes, immune status, human immunodeficiency virus, age component.

Среди показателей иммунного статуса имеется ряд таких, которые определяют реальное соотношение работы иммунной системы на протяжении жизни человека и ее потенциала в будущем. Речь идет о количестве наивных лимфоцитов CD45RA и лимфоцитов памяти CD45RO. Их соотношение обуславливается участием лимфопоэза и иммуногенеза в области формирования пула циркулирующих лимфоцитов периферической крови. Соотношение наивные лимфоциты/лимфоциты памяти обуславливают актив иммунологического опыта организма, что позволяет понять как возможность развития новых иммунных ответов, так и состоятельность лимфопоэза в поле поддержания необходимого уровня антигенраспознающего репертуара лимфоцитов. Показатель соотношения наивные лимфоциты/лимфоциты памяти является динамичным показателем. Он зависит от многих условий, включая активность иммунной эффеции и чувствительность наивных лимфоцитов и лимфоцитов памяти к регуляторным факторам и факторам внешних воздействий. Данный вопрос изучен недостаточно, что и обеспечивает интерес к данной проблеме.