11. Kostyuk V. A., Potapovich A. I., Speransky S. D., Maslova G. T. // Free Radic. Biol. Med. 1996. Vol. 21. № 4. P. 487.
12. Kostyuk V., Potapovich A. // Arch. Biochem. Biophys. 1998. Vol. 355. P. 43.
13. Kostyuk V. A., Potapovich A. I. // Biochem. Int. 1989. Vol. 19. P. 1117.
14. Kampen E. J., Zijlstra W. G. // Advan. Clin. Chem. 1983. Vol. 23. P. 199.
15. Runzel U., Dreybrodt W., Schwtizer-Stenner R. // Biophys. J. 1986. Vol. 49. P. 1069.
16. Jose R., Laires A., Borba H. et al. // Mutagenesis. 1986. Vol. 1. P. 179.
17. Rastogi P.B., Levin R.E. // Environmental Mutagenesis. 1987. Vol. 9. P. 79.

Поступила в редакцию 10.09.2002.

Алла Ивановна Потапович – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник.
Елена Николаевна Стригунова – младший научный сотрудник.
Владимир Андреевич Костюк – доктор химических наук, заведующий лабораторией.

УДК 611-018.5:576.3.4+576.8.097.3:632.954

А.И. ПОТАПОВИЧ, Е.Н. СТРИГУНОВА, И.К. МАРЧИК, В.А. КОСТЮК

ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ СИММ-ТРИАЗИНОВЫХ ГЕРБИЦИДОВ НА КЛЕТКИ КРОВИ И ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

The *in vitro* cytotoxic action of s triazine herbicides prometryn and simazine on erythrocytes and cells of immune system (peritoneal macrophages) was studied. These herbicides were found to-produce hemolysis of erythrocytes, and prometryn was more strong hemolytical agent than simazine. It was shown that incubation of red blood cells with prometryn as well as simazine does not result in methemoglobin formation. The results of this study demonstrate that peritoneal macrophages more sensitivity to the injury action of s triazine herbicides prometryn and simazine than erythrocytes.

Интенсивная технология выращивания зерновых и овощных продовольственных культур включает применение химических средств защиты растений, среди которых ведущее место занимают гербициды, в частности производные симм-триазина (симазин, прометрин, атразин, пропазин и др.) [1, 2]. Перспективность использования симм-триазиновых гербицидов обусловлена их высокой эффективностью против сорняков, относительно малой токсичностью, слабо выраженными кумулятивными свойствами, незначительными раздражающим и кожно-резорбтивным действием [2, 3]. Вместе с тем вследствие высокой устойчивости в окружающей среде создаются условия для поступления и депонирования гербицидов в организме человека. По данным ВОЗ, в мире ежегодно регистрируется около 500 тыс. случаев отравлений пестицидами, из них около 5 тыс. со смертельным исходом [4]. Известно, что симм-триазиновые гербициды способны вызвать функциональные нарушения нервной системы, печени, почек, изменение морфологического состава крови, оказывать эмбриотоксическое действие, стимулировать развитие аутоиммунных реакций [5, 6]. Поскольку клетки крови и иммунной системы являются одними из первых мишеней действия негативных факторов внешней среды на организм, в данной работе было изучено цитотоксическое действие симм-триазиновых гербицидов прометрина и симазина на эритроциты и перитонеальные макрофаги.

Материал и методика

Были использованы симм-триазиновые гербициды: прометрин (50 % смачивающий порошок), действующее вещество 2-метилтио-4,6-*бис*-(изопропиламино)-симм-триазин; симазин (80 % смачивающий порошок), действующее вещество 2-хлоро-4,6-*бис*-(этиламино)-симм-триазин.

Эритроциты отделяли центрифугированием при 1500 g в течение 5 мин и трижды отмывали в 0,9 % растворе хлорида натрия. Для оценки гемолитического действия гербицидов использовали 0,3 % суспензию эритроцитов в 0,05 М фосфатном буфере, pH 7,4. Исследуемые гербициды вносили в среду инкубации в виде суспензии в дистиллированной воде или этиловом

This document has been edited with Infix PDF Editor - free for non-commercial use.
To remove this notice, visit: www.iceni.com/unlock.htm

спирте в диапазоне концентраций, позволяющих определить их цитотоксическое действие. Контрольная проба содержала аналогичный объем растворителя. Пробы инкубировали в течение 60 мин при комнатной температуре, затем центрифугировали при 1500 g в течение 5 мин и использовали супернатант для последующего анализа. Степень гемолиза определяли спектрофотометрически по поглощению при 577 нм. 100 % гемолиз вызывали добавлением эритроцитов к дистиллированной воде. Процесс метгемоглобинобразования в присутствии гербицидов контролировали спектрофотометрически в диапазоне длин волн 450–700 нм (Specord M-40).

Перитонеальные макрофаги крыс получали модифицированным методом Коркиной [7]. Повреждение макрофагов гербицидами проводили в 9 мМ фосфатном буфере, pH 7,3, содержащем 3,5 млн кл./мл в конечном объеме 1,0 мл. Исследуемые гербициды вносили в среду инкубации в виде суспензии в дистиллированной воде. Пробы инкубировали при 37 °С в течение 60 мин. Повреждение и лизис клеток оценивали по выходу лактатдегидрогеназы (ЛДГ), активность которой определяли спектрофотометрически, по скорости потребления НАДН в катализируемой ферментом реакции превращения пирувата в лактат.

Результаты и их обсуждение

При исследовании влияния симм-триазиновых гербицидов на клетки крови установлено, что прометрин и симазин уже через 2 мин после добавления в среду инкубации, содержащую эритроциты, оказывают гемолитическое действие, которое усиливается по мере увеличения концентрации исследуемых гербицидов (табл. 1, 2). Полученные данные свидетельствуют, что прометрин по сравнению с симазином обладает более выраженным гемолитическим действием. Как известно [2], острая пероральная токсичность для крыс ($ЛД_{50}$) составляет 3150–3750 мг/кг для прометрина и более 5000 мг/кг – для симазина. В данном исследовании *in vitro* прометрин в концентрации 1,6 мМ, примерно соответствующей 1/10 $ЛД_{50}$, вызывает гемолиз более 60 % эритроцитов. Тогда как в присутствии симазина в концентрации 2,6 мМ, примерно соответствующей 1/10 $ЛД_{50}$, эритроциты практически не повреждались.

Следует отметить, что прометрин и симазин плохо растворимы в воде (растворимость прометрина при 20 °С составляет 48 мг/л, симазина – 5 мг/л), достаточно хорошо – в органических растворителях (метанол, этиловый эфир) [2, 8]. Для того чтобы оценить влияние растворимости исследуемых гербицидов на их гемолитическую активность, сравнивали степень гемолиза эритроцитов, вызываемого водной и спиртовой (C_2H_5OH) суспензиями препаратов. Как следует из рис. 1, спиртовая суспензия прометрина оказывает более выраженное гемолитическое действие по сравнению с водной, что может быть обусловлено лучшей растворимостью гербицида в этиловом спирте. Аналогичные данные получены и для симазина.

Таблица 1

Степень гемолиза эритроцитов в присутствии водной суспензии прометрина, %

Концентрация прометрина, мМ	Время гемолиза, мин			
	2	20	40	60
0	4,9 ± 2,1	6,4 ± 1,1	7,0 ± 1,7	8,0 ± 1,5
0,2	12,9 ± 4,8	13,9 ± 5,4	14,9 ± 5,5	19,8 ± 12,4
0,4	24,2 ± 8,9	25,0 ± 9,3	25,6± 8,8	27,2 ± 8,9
0,8	39,1 ± 18,8	39,4 ± 16,0	41,4 ± 14,8	43,7 ± 13,8
1,6	62,5 ± 23,4	67,1 ±22,1	69,2 ± 18,4	70,6 ± 16,4
4,0	90,4 ± 14,6	94,8 ± 8,4	95,8 ± 7,1	96,4 ± 5,8

Таблица 2

Степень гемолиза эритроцитов в присутствии водной суспензии симазина, %

Концентрация симазина, мМ	Время гемолиза, мин			
	2	20	40	60
0	8,5 ± 1,6	6,8 ± 2,0	7,8 ± 0,6	7,8 ± 1,2
1,3	7,3 ± 2,1	6,6 ± 1,5	7,8 ± 2,5	6,8 ± 1,5
2,6	6,6 ± 1,2	6,4 ± 2,1	7,4 ± 1,9	8,5 ± 2,6
6,5	13,3 ± 4,0	24,4 ± 11,8	50,7 ± 16,5	78,6 ± 12,6
13	49,4 ± 36,7	95,7 ± 8,6	99,3 ± 1,3	100,0 ± 0,05

This document has been edited with Infix PDF Editor - free for non-commercial use.
To remove this notice, visit: www.iceni.com/unlock.htm

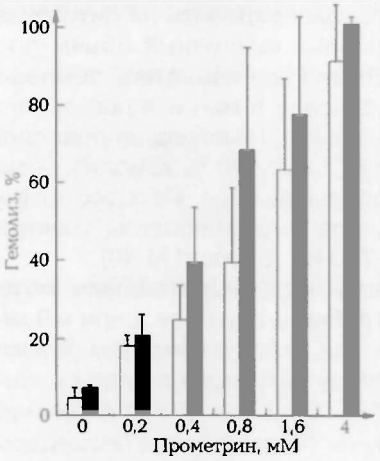

Рис. 1. Гемолитическое действие водной (■) и спиртовой (□) суспензий прометрина (время инкубации – 2 мин)

Способность симм-триазиновых гербицидов прометрина и симазина к метгемоглобинобразованию оценивалась спектрофотометрически в диапазоне длин волн 450–700 нм. На рис. 2 представлены спектры поглощения гемоглобина, содержащегося в супернатантах проб, инкубируемых без и в присутствии различных концентраций водной суспензии прометрина (время инкубации – 60 мин). Выход гемоглобина в супернатант был минимальным в отсутствие прометрина и увеличивался с ростом концентрации гербицида. Анализируя спектры поглощения гемоглобина в присутствии прометрина, можно сделать вывод о том, что данный гербицид не обладает способностью к метгемоглобинобразованию, поскольку отсутствуют характерная для электронного поглощения метгемоглобина деформация Q-полос и полоса поглощения при 620–630 нм. Спектры поглощения гемоглобина в присутствии водной суспензии симазина аналогичны спектрам, представленным на рис. 2, и также свидетельствуют об отсутствии у симазина способности к метгемоглобинобразованию.

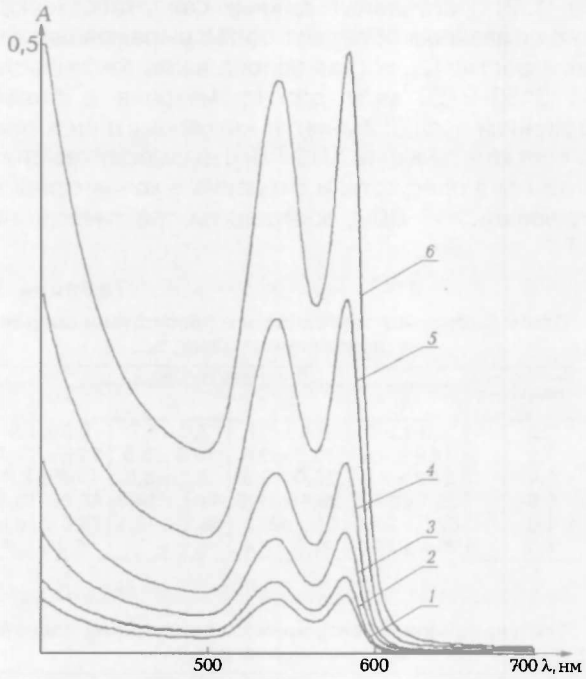

Рис. 2. Спектры поглощения гемоглобина из эритроцитов крыс, инкубируемых без и в присутствии водной суспензии прометрина:
1 – 6 – концентрация прометрина 0; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6 и 4,0 мМ соответственно

Исследование цитотоксического действия прометрина и симазина на клетки иммунной системы выполнено с использованием перитонеальных макрофагов. Полученные данные свидетельствуют, что гербициды вызывают значительное повреждение клеток, оцениваемое по выходу цитоплазматического фермента лактатдегидрогеназы в среду инкубации. Степень повреждения перитонеальных макрофагов в присутствии прометрина и симазина в концентрации 0,1 мМ составляет 33,6±8,5 % и 35,7±7,1 % соответственно, что свидетельствует о более высокой чувствительности к действию симм-триазиновых гербицидов кле-ток иммунной системы по сравнению с эритроцитами. Вместе с тем 10-кратное увеличение концентрации гербицидов в среде инкубации практически не приводит к усилению их цитотоксического действия на перитонеальные макрофаги.

Таким образом, эритроциты и перитонеальные макрофаги, обладающие достаточно вьюокой чувствительностью к повреждающему действию прометрина и симазина, могут быть удобным объектом для разработки мето-

This document has been edited with Infix PDF Editor - free for non-commercial use.
To remove this notice, visit: www.iceni.com/unlock.htm

дов оценки токсического влияния на организм гербицидов группы симм-триазина.

1. Захаренко В. А. Гербициды. М., 1990.
2. Майер-Боде Г. Гербициды и их остатки. М., 1972.
3. Мельников Н. Н., Новожилов К. В. Справочник по пестицидам. М., 1985.
4. Антонович Е. А. Качество продуктов питания в условиях химизации сельского хозяйства. Киев, 1990.
5. Ляпкало А. А. Гигиенические основы производства, применения и токсикологии триазиновых гербицидов: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 1994.
6. Абдурахманов Ф. М., Кирющенков А. П. // Акушерство и гинекология. 1999. № 4. С. 13.
7. Korkina L.G., Suslova T.B., Cheremisina Z.P., Velichkovsky B.T. // Stud. Biophys. 1988. Vol. 126. P. 99.
8. Груздев Г. С. Химическая защита растений. М., 1987.

Поступила в редакцию 10.09.2002.

Алла Ивановна Потапович – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник НИЛ проблем терморегуляции БГУ.
Елена Николаевна Стригунова – младший научный сотрудник НИЛ проблем терморегуляции БГУ.
Ирина Константиновна Марчик – студентка 5-го курса кафедры физиологии человека и животных.
Владимир Андреевич Костюк – доктор химических наук, заведующий НИЛ проблем терморегуляции БГУ.

УДК 575:579.841.24

С.Л. ВАСИЛЕНКО, Н.П. МАКСИМОВА, М.А. ТИТОК

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ МУТАГЕНЕЗА ДЛЯ БАКТЕРИЙ *PSEUDOMONAS MENDOCINA**

The conditions for receiving of mutant of bacteria *P. mendocina* were optimized. Using N-methyl-N´-nitro-N-nitrosoguanidine the representative collection of stable polyauxotrophic strains (was selected 26 different mutations) was allowed which are suitable for using as a recipients for genome mapping of bacteria *P. mendocina*.

Генетический анализ организма невозможен без получения наследственно различающихся форм, сравнение признаков которых с признаками дикого типа позволяет установить природу генетического материала. В связи с этим любой генетический эксперимент, какую бы конечную цель он не преследовал, всегда начинается с выбора мутагенного фактора и подбора условий, когда повреждающий агент с необходимой частотой вносит желаемые изменения в молекулу ДНК. Особенно остро данная задача ставится при изучении новых объектов, о которых отсутствуют сведения, позволяющие в короткий срок и в большом количестве получить разнообразные изменения наследственного материала.

Настоящая статья посвящена исследованию малоизученных в генетическом отношении бактерий *P. mendocina*. Конечной целью работы будет являться построение генетической карты данных микроорганизмов, что в свою очередь невозможно без наличия полимаркированных реципиентных штаммов. Цель настоящего исследования – оптимизация условий мутагенеза, позволяющих в достаточно короткий срок получить представительную коллекцию полиауксотрофных штаммов, пригодных для конъюгационного картирования.

Материал и методика

В качестве исходного использовался прототрофный штамм *P. mendocina* ВКМВ1299, полученный из Всесоюзной коллекции микроорганизмов и вирусов (г. Москва).

* Авторы статьи – сотрудники кафедры генетики.

This document has been edited with Infix PDF Editor - free for non-commercial use.
To remove this notice, visit: www.iceni.com/unlock.htm