- 2. Зезюльчик, М. Н. Структура 12-перстной кишки при инкорпорации радионуклидов / М. Н. Зезюльчик, Я. Р. Мацюк, Л. Е. Виноградова // Материалы IV съезда морфологов с международным участием: Российские ведомости. 1999. № 1–2, Раздел 2. С. 72–73.
- 3. Вопросы классификации и морфогенез малых желез стенок полых внутренних органов / М. Р. Сапин [и др.] // Журнал анат. и гистопатологии. 2013. Т. 2, № 1. С. 9–17.
- 4. Яцковский, А. Н. Дуоденальные железы: сравнительная морфология и гистохимия / А. Н. Яцковский // Успехи совр. биол. 1990. Т. 109, Вып. 3. С. 424—439.
- 5. *Яцковский, А. Н.* Эндокриноциты дуоденальных желез у некоторых представителей отряда приматов / А. Н. Яцковский, Т. В. Боронихина // Архив анат. 1991. № 1. С. 57–61.
- 6. *Юлдашев, А. Ю.* Особенности структурно-функционального становления двенадцатиперстной кишки и бруннеровых желез в раннем постнатальном периоде жизни приматов / А. Ю. Юлдашев, З. А. Каххаров, А. А. Нишанова // Совр. пробл. науки и образ. 2009. № 3. С. 77–80.
- 7. Леонтюк, А. С. Информационный анализ в морфологических исследованиях / А. С. Леонтюк, Л. А. Леонтюк, А. И. Сыкало. Минск: Наука и техника, 1981. 160 с.
- 8. Ибодов, С. Т. Морфологические особенности желез двенадцатиперстной кишки крыс при действии условий высокогорья / С. Т. Ибодов, Д. Б. Никитюк, Э. Х. Тагайкулов // Вестник Авиценны. 2010. № 1. C.111-115.

Поступила 17.11.2014

УДК 577.3

ОЦЕНКА ПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ ВОДНОГО ЭКСТРАКТА КУКОЛОК ДУБОВОГО ШЕЛКОПРЯДА ПРИ ДЕЙСТВИИ ИОНОВ МЕДИ С ПОМОЩЬЮ *ALLIUM*-TECTA

¹И. И. Концевая, ²И. В. Вуевская

¹Гомельский государственный университет имени Ф. Скорины ²Гомельский государственный медицинский университет

Цель: изучить протекторные свойства водного экстракта куколок китайского дубового шелкопряда в условиях токсического действия ионов меди на цитогенетическую активность в клетках меристем *Allium сера* L.

Материалы и методы. Влияние тестируемых растворов оценивали с использованием ана-телофазного метода учета перестроек хромосом в клетках корневых меристем по митотическому индексу, метафазнопрофазному индексу, патологии митоза, составу и спектру патологий митоза.

Результаты. Выявлено, что использование ВЭКШ в варианте действия сверхлетальной концентрации ионов меди эффективно подавляет патологические процессы в клетках.

Заключение. Протекторные свойства активных компонентов ВЭКШ против серьезных цитогенетических повреждений, вызванных медью, выражены в уменьшении числа пикнотических клеток в интерфазе.

<u>Ключевые слова:</u> Allium-тест, ионы меди, митоз, водный экстракт куколок дубового шелкопряда.

THE ASSESSMENT OF PROTECTIVE PROPERTIES OF AQUEOUS EXTRACT OF OAK SILKWORM PUPAE UNDER THE INFLUENCE OF COPPER IONS USING ALLIUM-TEST

¹I. I. Kontsevaya, ²I. V. Vuyevskaya

¹Gomel Fr. Skaryna State University ²Gomel State Medical University

Objective: to study the protective properties of the aqueous extract of Chinese oak silkworm pupae in the conditions of toxic effect of copper ions on the cytogenetic activity in meristematic cells of *Allium cepa* L.

Material and methods. The effect of the tested solutions were assessed by means of ana-telophase method for accounting chromosome aberrations in cells of root meristems by mitotic index, metaphase-prophase index, the pathology of mitosis, its composition and spectrum.

Results. The study revealed that the application of the aqueous extract of Chinese oak silkworm pupae in the effect of the supralethal concentration of copper ions effectively inhibits pathological processes in cells.

Conclusion. The protective properties of the active components of the aqueous extract of oak Chinese silkworm pupae against severe cytogenetic damages caused by the copper are expressed in the reduced number of pyknotic cells in the interphase.

Key words: Allium-test, copper ions, mitosis, aqueous extract of oak silkworm pupae.

Введение

Медь относится к группе тяжелых металлов и является микроэлементом, необходимым для жизнедеятельности организмов. Благодаря своей химической активности, ионы меди могут оказывать отрицательный эффект, если клетка не справляется с их детоксикацией. Одной из основных причин негативных эффектов является образование медью радикалов гидрокси-

ла, которые при взаимодействии с тиоловыми группами белков разрушают их вторичную структуру и вызывают деградацию липидов и нуклеиновых кислот. В результате ингибируются многочисленные метаболические процессы, повреждается структура клеток и тканей, наступает задержка роста клеток и их старение [1–3].

В настоящее время накоплен большой объем информации о фитотоксическом действии тяже-

лых металлов [1–6]. Allium сера L. считается эталонным растительным тест-объектом для анализа мутагенности, митотоксичности и токсичности различных факторов [7]. Allium-тест рекомендован экспертами ВОЗ как стандарт в цитогенетическом мониторинге окружающей среды, так как его результаты показывают корреляцию с тестами на других организмах, в том числе млекопитающих и человеке [8].

В связи с широким распространением в биосфере тяжелых металлов в результате естественных природных процессов и антропогенной деятельности актуален поиск соединений, в том числе природного происхождения, уменьшающих негативное действие тяжелых металлов как на рост растений, так и на их накопление в растениеводческой продукции.

Среди источников биологически активных веществ, используемых в растениеводстве, до недавнего времени не применяли препараты из гемолимфы куколок китайского дубового шелкопряда, хотя по химическому составу гемолимфа может быть использована для получения высокоэффективных стимуляторов роста. Ранее было обнаружено ингибирующее действие водного экстракта куколок шелкопряда (ВЭКШ) на образование *in vivo* активных форм кислорода и галогенов в нейтрофилах, что свидетельствует об его антиоксидантном действии [9]. Был выявлен состав гемолимфы и водного экстракта куколок шелкопряда, содержащий комплекс

аминокислот, углеводов, микроэлементов и антиоксидантов, который оптимален для функционирования эукариотических клеток [10].

Известно, что антиоксиданты в зависимости от концентрации и ряда других факторов могут проявлять либо антиоксидантное, либо прооксидантное действие, или вообще не оказывать какого-либо эффекта на интенсивность накопления активных форм кислорода и скорость реакций свободнорадикального окисления, и тем самым на общее состояние организма и его адаптивность.

Цель

Изучить протекторные свойства ВЭКШ в условиях токсического действия ионов меди на цитогенетическую активность в клетках корневых меристем *Allium cepa* L.

Материалы и методы исследования

Воздействие ионов меди и ВЭКШ на делящиеся клетки растений изучали с помощью модельной системы с использованием корневой меристемы четырехдневных проростков лука сорта «Штуттгартен» [4]. Проросшие семена переносили в тестовые растворы на 24 часа.

Для опытов использовали три варианта концентраций $CuSO_4 \times 5H_2O$ (10; 100; 1 000 мкМ, квалификации ч.д.а.) и три варианта совместного применения сульфата меди и ВЭКШ в концентрациях: 10 мл ВЭКШ/100 мл раствора и 1 мл ВЭКШ/100 мл раствора (таблица 1). Выбор концентраций ВЭКШ обоснован в работе [11].

Таблица 1 — Тестируемые концентрации ВЭКШ, ионов меди и обозначения опытных групп

Концентрация ионов меди, мкМ — вариант опыта	10 мл ВЭКШ/100 мл раствора	1 мл ВЭКШ/100 мл раствора
0 — к	к'	к"
$CuSO_4 \times 5H_2O$, 10 мк $M-1$	1'	1"
$CuSO_4 \times 5H_2O$, 100 мк $M - 2$	2'	2"
CuSO ₄ × 5H ₂ O, 1 000 мкМ – 3	3'	3"

ВЭКШ готовили согласно разработанной инструкции [12]. Нормирование ВЭКШ проводили по сумме свободных аминокислот путем разведения до концентрации 550 мг/л. В подборе концентраций $CuSO_4 \times 5H_2O$ руководствовались литературными данными [4, 6]. Контролем служили семена лука, пророщенные в дистиллированной воде. Эксперимент проводили в трехкратной повторности.

Фиксацию проростков семян и приготовление давленых препаратов для цитогенетического анализа выполняли по общепринятой методике [13].

Влияние тестируемых растворов на клеточном уровне оценивали с использованием метафазного и ана-телофазного метода учета перестроек хромосом в клетках корневых меристем по следующим показателям: митотическому индексу (МИ), метафазно-профазному

индексу (МПИ), патологии митоза (ПМ), составу и спектру патологий митоза [13, 14]. Микроскопирование препаратов осуществляли на микроскопе Leica Gallen III (Германия) при увеличении ×600. В каждой экспериментальной выборке было просмотрено более 20 000 меристематических клеток.

Полученные данные обработаны статистически с использованием пакета прикладного программного обеспечения «Statsoft (USA) Statistica», 7.0. Для сравнения изучаемых показателей между опытными и контрольными группами применяли t-критерий Стьюдента, так как изучаемые показатели подчинялись закону нормального распределения. Нулевую гипотезу отклоняли при уровне статистической значимости р < 0.05. Данные в тексте приведены в виде $M \pm m$, где M - среднее арифметическое, m - ошибка среднего арифметического.

Результаты и обсуждение

<u>Митотическая активность.</u> Для многоклеточных организмов любое нарушение митотической активности клеток является потенциально опасным, поскольку может приводить к серьезным отклонениям от нормального роста и развития.

Установлено, что в результате обработки проростков растворами сульфата меди по мере воз-

растания их концентрации в 1,5—3 раза снижалась митотическая активность меристематических клеток до 3,5—6,1 % по сравнению с контролем (рисунок 1). Согласно литературным данным [2–4], по изменениям МИ сульфат меди занимает первое место по токсичности в ряду тяжелых металлов, таких как хлорид кадмия, ацетат свинца, сульфат никеля, нитрат алюминия, сульфат цинка.

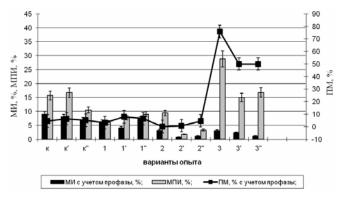


Рисунок 1 — Цитогенетические параметры в меристематических клетках *Allium* сера в зависимости от концентрации ВЭКШ и концентрации ионов меди

При совместном использовании в качестве тестовых растворов сульфата меди в концентрации 100 и 1000 мкМ и ВЭКШ независимо от его концентрации наблюдали существенное подавление митотической активности клеток меристем с 3,5 до 1,5–2,0 % (р < 0,05).

Значения МПИ в клетках корневых меристем Allium cepa статистически значимо возрастали при использовании сульфата меди в сверхлетальной концентрации (1000 мкМ) по сравнению с контролем (р < 0,01). Добавление ВЭКШ в солевые растворы меди в концентрации 100 и 1000 мкМ существенно снижало значение МПИ по отношению к соответствующим вариантам использования чистого раствора сульфата меди (р < 0,01). Удлинение времени прохождения клетками профазы митоза в вариантах совместного применения сульфата меди и ВЭКШ можно рассматривать как включение механизмов адаптации к стрессовым факторам и поддержания гомеостаза клеточной популяции [5, 6, 15].

Патологии митоза. Выявлено, что ВЭКШ в большинстве исследуемых опытных вариантах имеет тенденцию подавлять патологические процессы в клетках по сравнению с соответствующими вариантами использования растворов сульфата меди. Протекторное свойство ВЭКШ наиболее выражено в вариантах с применением сверхлетальных концентраций раствора сульфата меди (1000 мкМ) (рисунок 1). При тестируемых концентрациях ВЭКШ, независимо от количественного содержания в растворе сульфата меди, во всех опытных вариантах встречались видимые изменения в морфологии и увеличении раз-

меров меристематических клеток лука. С возрастанием концентрации ионов меди отмечали усиление различий по изученным цитологическим параметрам между отдельными корнями.

Известно, что отставание и забегание хромосом в метакинезе и при расхождении к полюсам возникает при повреждении хромосом в области кинетохора. В большинстве опытных вариантов при экспонировании проростков в солевом растворе сульфата меди доля клеток с такой патологией была одна из наиболее высоких: от $26,1 \pm 2,2$ до 100 %. При совместном применении ВЭКШ и растворов сульфата меди число клеток с забеганием и отставанием хромосом снижалось в два раза (р < 0,05).

В исследуемых клетках контрольных вариантов (к, к' к") отмечали асимметричное расположение митотического веретена. Значение данного признака составляло, соответственно, 20.3 ± 2.0 , 16.0 ± 2.2 и 9.0 ± 1.2 %. При использовании растворов сульфата меди в концентрации 100 и 1000 мкМ не определяли клетки с данным типом патологии. Результаты наблюдений не менялись при добавлении ВЭКШ в тестовые растворы сульфата меди.

Меристематические клетки корешков лука в контрольном варианте к' и в варианте использования сульфата меди в концентрации 1000 мкМ содержали одиночные мосты. Число клеток с такой патологией составляло, соответственно, $1,1\pm0,2$ и $8,7\pm0,9$ %. В вариантах с применением сульфата меди и ВЭКШ одиночные мосты не встречались.

Среди патологий митоза, наблюдаемых у 50.5 ± 7.1 % клеток при совместном использо-

вании сверхлетальной концентрации сульфата меди (1000 мкМ) и ВЭКШ при обеих тестируемых концентрациях следует выделить агглютинацию хромосом (образование комков, набухание). Можно предположить, что диффузное действие ионов меди на хромосому объясняется нарушениями в белковой части нуклеопротеидов. Как правило, это действие обратимо: деление клеток продолжается и образование комков хромосом при последующих делениях не возобновляется [14, 15].

Кроме митотических нарушений в исследуемых препаратах были обнаружены многочисленные ядерные аномалии в интерфазных клетках, среди них пикноз ядерного материала, лопастевидные ядра, микроядра.

Пикноз ядерного материала регистрировали в 70 и 90 % наблюдаемых клеток в вариантах с использованием раствора сульфата меди в концентрациях 100 и 1000 мкМ соответственно. Добавление ВЭКШ в солевой раствор подавляло образование пикнотических ядер до 10–20 % при концентрации 10 мл/100 мл раствора и до 40–60 % — при концентрации ВЭКШ, равной 0,1 мл/100 мл раствора.

Реститутивные клетки (клетки с лопастевидными ядрами) образуются вследствие выхода клеток из К-митоза посредством деконденсации хаотично разбросанных хромосом, минуя стадию расхождения хромосом и образования клеточной стенки. Такие клетки отмечали в единичных случаях при концентрациях ионов меди 10 и 100 мкМ и в 50 % случаев — при концентрации ионов меди, равной 1000 мкМ. Добавление ВЭКШ в тестовые растворы сульфата меди снижало число реститутивных клеток вдвое.

Образование микроядер происходит вследствие фрагментации или отставания отдельных хромосом, вокруг которых в телофазе формируется ядерная оболочка, параллельно образованию оболочки вокруг основных дочерних ядер. Новообразованные микроядра либо сохраняются в клетке в течение всего дальнейшего клеточного цикла вплоть до очередного деления, либо подвергаются пикнозу, разрушаются и выводятся из клетки. В эксперименте обнаружено незначительное число микроядер как в контроле $(0.13 \pm 0.01 - 0.27 \pm 0.03 \%)$, так и в вариантах применения сульфата меди (от 0.05 ± 0.01 до 0.12 ± 0.02 %), что, однако, является тревожным моментом, поскольку их присутствие служит индикатором начала патологических процессов и нестабильности генома. Выявлено, что действие ВЭКШ совместно с сульфатом меди при всех тестируемых концентрациях металла существенно стимулировало образование микроядер (р < 0,01). Данный результат объясняется наличием в препаратах фрагментированных интерфазных ядер и встречаемостью патологии митоза «отставание и забегание хромосом» и указывает на реальные пути образования микроядер в клетках.

Полученные результаты, свидетельствующие о способности ионов меди вызывать различной природы цитогенетические эффекты в клетках, во многом согласуются с данными других авторов [2–6]. Известно, что тяжелые металлы способны индуцировать следующие типы повреждений ДНК: однонитевые разрывы, двойные разрывы ДНК, сшивки ДНК-ДНК и ДНК-белок, приводящие к изменению вторичной структуры ДНК [1]. Любое первичное повреждение молекулы ДНК в результате серии ферментативных реакций может реализоваться в точечную мутацию или хромосомную аберрацию [1, 14]. В то же время при воздействии ВЭКШ стимулирование или ингибирование потенциальных повреждений различной природы регулируется с привлечением различных клеточных механизмов, о чем свидетельствует варьирование уровня и спектра патологий митоза [11]. Можно предположить проявление цитозащитной роли ВЭКШ и его активных компонентов против серьезных цитогенетических повреждений, вызванных ионами меди.

Заключение

Выявлено, что использование ВЭКШ при действии сверхлетальной концентрации ионов меди (1000 мкМ) эффективно подавляет патологические процессы в меристематических клетках корешков Allium cepa. Протекторные свойства активных компонентов ВЭКШ против серьезных цитогенетических повреждений, вызванных сульфатом меди в концентрациях 100 и 1000 мкМ, выражаются в уменьшении числа пикнотических клеток в интерфазе.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- 1 Сьяксте, Т. Г. Химические соединения, повреждающие ДНК / Т. Г. Сьяксте, Н. И. Скьяксте. Рига: Зинатие, 1991. 152 с.
- 2. *Maksymiec, W.* Effect of Copper on Cellular Processes in Higher Plants / W. Maksymiec // Photosynthetica. 1997. Vol. 34. P. 321–342.
- 3. *Himelblau*, E. Delivering Copper within Plant Cells / E. Himelblau, E. R. M. Amasino // Curr. Opin. Plant Biol. 2000. Vol. 3. P. 205–210.
- 4. Цитогенетические эффекты солей токсичных металлов в клетках апикальной меристемы корней проростков *Allium cepa* L. / А. И. Довгалюк [и др.] // Цитология и генетика. 2001. Т. 35, № 2. С. 3–10.
- 5. *Толкачева*, *Т. А.* Изучение протекторных свойств водного экстракта куколок дубового шелкопряда при фито- и цитотоксической активности ионов свинца в *Allium-mecme* / Т. А. Толкачева, И. И. Концевая // Веснік Віцебскага дзяржаўнага ўніверсітэта. 2012. № 3 (69). С. 41–50.
- 6. *Толкачева*, *Т. А.* Изучение протекторных свойств водного экстракта куколок дубового шелкопряда при цитотоксической активности ионов меди в *Allium*-тесте / Т. А. Толкачева, И. И. Концевая // Веснік Віцебскага дзяржаўнага ўніверсітэта. 2012. № 4 (70). С. 52–60.
- 7. *Fiskesjo*, *G*. The Allium Test as a standard in environmental monitoring / G. Fiskesjo // Hereditas. 1985. T. 102. C. 99–112.
- 8. WHO World Health Organization monographs on selected medicinal plants // World Health Organization. Geneva, 1999. T. 1. C. 5–32.

- 9. Антиоксидантная активность куколок китайского дубового шелкопряда (Antheraea pernyi G.-М.) / А. А. Чиркин [и др.] // Ученые записки УО «ВГУ им. П. М. Машерова»: сб. науч. ст. Витебск: Изд-во УО «ВГУ им. П. М. Машерова», 2007. С. 248–265.
- 10. Содержание свободных аминокислот в безбелковых фракциях гемолимфы куколок дубового шелкопряда / А. А. Чиркин [и др.] // Веснік Віцебскага дзяржаўнага ўніверсітэта. 2011. № 6 (66). С. 45–53.
- 11. Концевая, И. И. Изучение цитогенетического эффекта водного экстракта куколок дубового шелкопряда у *Allium сера* L. / И. И. Концевая, Т. А. Толкачева // Веснік Віцебскага дзяржаўнага ўніверсітэта. 2011. № 4 (64). С. 32–38.
- 12. *Трокоз, В. А.* Способ получения лечебного экстракта. Авторское свидетельство СССР, № 178439 A1; патент Украины 16965 (1997 год).
- 13 *Калаев, В. Н.* Цитогенетический мониторинг: методы оценки загрязнения окружающей среды и состояния генетического аппарата организма: учебное пособие / В. Н. Калаев, С. С. Карпова. Воронеж: Изд-во ВГУ, 2004. 80 с.
- 14. *Алов, И. А.* Цитофизиология и патология митоза / И. А. Алов. М.: Медицина, 1972. 264 с.
- 15. Воздействие нитрата свинца на цитогенетические показатели сосны обыкновенной / М. В. Белоусов [и др.] // Вестник Воронежского государственного университета. Сер. Химия. Биология. Фармация. Воронеж, 2010. № 2. С. 63–66.

Поступила 13.01.2015

ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДОРОВЬЕ И ЗДРАВООХРАНЕНИЕ, ГИГИЕНА

УДК 616-036.22-053.8:614.876

ГИПЕРТОНИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ У ВЗРОСЛОГО НАСЕЛЕНИЯ, ЭВАКУИРОВАННОГО ИЗ ЗОНЫ ОТЧУЖДЕНИЯ ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС, В ПОСЛЕАВАРИЙНОМ ПЕРИОДЕ

О. А. Капустинская

Национальный научный центр радиационной медицины НАМН Украины, г. Киев

Цель: установить уровень нозологических форм гипертонической болезни (ГБ) у эвакуированного взрослого населения на момент аварии на Чернобыльской АЭС, показать его зависимость от возраста, пола и времени нахождения людей в зоне риска до отселения.

Материалы и методы. Изучены данные о воздасте исследуемой когорты населения на момент аварии (18–39 лет — 30779 человек, 40–60 лет — 24343 человек) за период 1988–2010 гг. Применяемые методы: эпидемиологические и статистические.

Результаты. Послеаварийный период характеризуется ростом болезней системы кровообращения. У лиц, которым на момент аварии было 18–39 лет, максимальный уровень наблюдался через 17–22 года после катастрофы, 40–60 лет — повышенный уровень определялся уже в первые 6 лет, а максимальный — через 12–17 лет.

Уровень заболеваемости ГБ у лиц, возраст которых на момент аварии составлял 18–39 лет, за исключением первого послеаварийного периода был несколько выше, чем у лиц старшей возрастной группы. В первые два аварийные периоды преобладали больные с диагнозом: «Эсенциальная гипертензия», что можно объяснить влиянием стрессогенного и социально-экономического факторов. Начиная с третьего периода, заболеваемость ГБ с преимущественным поражением сердца становится более весомой и сохраняет эти высокие показатели.

<u>Ключевые слова:</u> авария на Чернобыльской АЭС, эвакуированное взрослое население, уровень заболеваемости, сердечно-сосудистые заболевания, гипертоническая болезнь.

HYPERTENSIVE HEART DISEASE IN THE ADULT POPULATION EVACUATED FROM THE CHERNOBYL EXCLUSION ZONE IN THE POST-ACCIDENT PERIOD

O. A. Kapustinskaya

National Scientific Center of Radiation Medicine of NAMS of Ukraine, Kiev

Objective: to determine the level of nosologic forms of hypertension disease (HD) in the population resettled from the Chernobyl exclusion zone to show its dependence on age, sex and the period of time the people lived in the zone before the resettlement.

Material and methods. The data on the age of the cohort at the time of the accident were studied over 1988–2010 (30779 people at the age 18–39, 24343 people at the age 40–60). The research included epidemiological and statistical methods.

Results. The post-accident period is characterized by the increased prevalence of cardiovascular diseases. The people whose age at the time of the accident was 18–39 detected the highest morbidity rate 17–22 years after the accident, and the people aged 40–60 at the time of the accident detected a high morbidity rate for the first time 6 years later and the maximum rate was 12–17 years later.

The HD morbidity rate in the people whose age was 18–39 with the exception of the first period after the disaster was slightly higher than in the people from the older age group. During the first two accident periods, the patients diagnosed with essential HD were prevalent, which can be explained by the impact of stress and social and economic factors. Beginning from the third period, the morbidity of HD, mainly affecting the heart, has become more substantial and remained its high rate.

<u>Key words:</u> Chernobyl accident, adult evacuees, morbidity rate, cardiovascular disease, hypertension disease.