

выраженным изменениям в тканях семенников, с признаками нарушения микроциркуляции, развитием отека, дистрофических изменений в эпителии извитых семенных канальцев, вплоть до очагового некроза. У животных опытной группы по сравнению с контрольной отмечается значительное уменьшение диаметра ИСК ( $P < 0,001$ ) и толщины герминативного слоя ( $P < 0,001$ ). Наиболее вероятно, что данные морфологические изменения в семенниках будут негативно сказываться на репродуктивной способности животных.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Guidelines on male infertility / A. Jungwirth [et al.]. — Arnhem (The Netherlands): European Association of Urology. — 2012. — 64 p.
2. Лабораторная диагностика мужского бесплодия / В. В. Долгов [и др.]. — Тверь: Триада, 2006. — 145 с.
3. Jalali, M. Study of Spermatogenesis Fetal Testis Exposed Noise Stress During and after Natal Period in Rat / M. Jalali [et al.] // Pakistan Journal of Biological Sciences. — 2013. — Vol. 16. — P. 1010–1015.
4. Effect of immobilization stress on testicular germ cell apoptosis in rats / H. Yazawa [et al.] // Human Reproduction. — 1999. — Vol. 14, № 7. — P. 1806–1810.
5. Tavakoli, P. Restraint Stress is Biomedically Important in Male Reproductive Failure / P. Tavakoli, R. Ahmadi, M. Mafi // ICCBMS. — 2012. — P. 17–19

6. Effects of Chronic Simulated Hypobaric Hypoxia on Mouse Spermatogenesis / E. Bustos-Obregón [et al.] // Int. J. Morphol. — 2006. — Vol. 24, № 3. — P. 481–488.

7. Структурно-функциональные нарушения в семенниках крыс в условиях острого иммобилизационного стресса / Ю. Н. Королев [и др.] // Андрология и генитальная хирургия. — 2012. — № 4. — С. 25–28.

8. Богомолова, Н. В. Функциональная морфология клеток крови в условиях острого иммобилизационного стресса при облучении электромагнитными волнами миллиметрового диапазона / Н. В. Богомолова, В. Ф. Киричук, С. И. Киреев // Современные наукоемкие технологии. — 2006. — № 6. — С. 43–44.

9. Хельсинская декларация всемирной медицинской ассоциации: этические принципы медицинских исследований с участием человека в качестве объекта исследования (Сеул, 2008) // Морфология. — 2010. — Т. 4, № 2. — С. 69–72.

10. Пешков, М. В. Метод гистологической проводки тканей с использованием изопропанола и минерального масла / М. В. Пешков, И. И. Дыгало // Архив патологии. — 2009. — № 3. — С. 39–41.

11. Никитин, Н. А. Анатомические особенности венозного оттока от репродуктивных органов крыс / Н. А. Никитин, А. В. Никитина, А. В. Байтингер // Бюллетень сибирской медицины. — 2012. — № 2. — С. 84–92.

12. Ухов, Ю. И. Мофометрические методы в оценке функционального состояния семенников / Ю. И. Ухов, А. Ф. Астраханцев // Арх. анат. гистол. и эмбриол. — 1983. — Т. 84, № 3. — С. 66–72.

13. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О. Ю. Реброва. — М.: МедиаСфера. 2003. — 312 с.

14. Карташова, А. Г. Влияние хронических факторов в постнатальном онтогенезе животных / Томск: «В-Спектр», 2010. — 116 с.

15. Deranged spermatogenesis of adult swiss albino mice as effect of immobilization stress – histological study / B. Khandve [et al.] // Isr Journal Of Pharmacy. — 2013. — Vol. 3, № 2. — P. 7–10.

Поступила 02.07.2013

УДК 621.842:612.082.2

## ИССЛЕДОВАНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ СПОСОБНОСТИ СМАЗОЧНО-ОХЛАЖДАЮЩИХ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СОСТАВОВ К ИНДУКЦИИ ОТДАЛЕННЫХ ЭФФЕКТОВ В ОПЫТАХ *IN VITRO*

В. В. Трейлиб, Л. В. Половинкин, Н. В. Дудчик

Республиканский научно-практический центр гигиены, г. Минск

В статье представлены результаты оценки потенциальной способности смазочно-охлаждающих технологических составов в опытах *in vitro* на различных штаммах *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* и с использованием тестерной ДНК фага  $\lambda$ . Показано, что изученные смазочно-охлаждающие технологические составы на указанных тест-объектах не проявляют мутагенных и генотоксических свойств.

**Ключевые слова:** смазочно-охлаждающие технологические составы, генотоксичность, мутагенная активность, ДНК-повреждающее действие, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*.

## THE STUDY OF POTENTIAL ABILITY OF METALWORKING FLUIDS FOR INDUCTION OF THE REMOTE EFFECTS IN EXPERIMENTS *IN VITRO*

V. V. Treilib, L. V. Polovinkin, N. V. Dudchik

Republican Research Center for Hygiene, Minsk

The article presents the results of the assessment of potential ability of metalworking fluids in experiments *in vitro* on various strains of *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* by means of the test DNA of  $\lambda$  phage. It was shown that the studied metalworking fluids did not display mutagen and genotoxic properties on the specified test objects.

**Key words:** metalworking fluids, genotoxicity, mutagen activity, DNA-damaging action, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*.

#### Введение

Многотоннажное использование смазочно-охлаждающих технологических составов (СОТС) в различных отраслях промышленности обу-

славливает непосредственный контакт с ними работающих. В оценке неблагоприятного действия химических веществ, в том числе и СОТС изучение их потенциальной возможно-

сти индуцировать отдаленные (специфические) эффекты (мутагенный, канцерогенный и пр.) является необходимым для дальнейшего обоснования мероприятий по минимизации вредного влияния ксенобиотиков на организм человека и окружающую среду [1, 2]. Следует отметить, что исследование специфических эффектов химических веществ и композиций на экспериментальных животных является наиболее объективным, но вместе с тем в достаточной степени дорогостоящим, трудоемким и длительным процессом. В связи с этим для получения первичной информации, изучение специфического действия ксенобиотиков предварительно следует проводить в краткосрочных опытах *in vitro* на различных тест-объектах [3], и в случаях обнаружения эффектов в дальнейшем их необходимо подтверждать в углубленных экспериментах на млекопитающих.

#### Цель работы

В опытах *in vitro* на различных штаммах *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* и с использованием тестерной ДНК фага  $\lambda$  изучить потенциальную способность СОТС оказывать мутагенное и генотоксическое действие.

#### Материалы и методы исследований

Исследованию подвергали СОТС на минеральной «ЭК-2М» (масло рапсовое, триэтанолламин, моноэтанолламин, формалин, калия гидроксид, масло индустриальное И20А, вода) и синтетической «СК-1» (борная кислота, калий едкий, моноэтанолламин, триэтанолламин, нитрит натрия, олеиновая кислота, неонол, вода) основах.

Для индикации генных мутаций и ДНК-повреждающего действия СОТС «ЭК-2М» и «СК-1» использовали бактериальные тест-системы. Иссле-

дования проводили в тесте Эймса на индикаторных штаммах *Salmonella typhimurium* TA1535, TA97, TA98, TA100, TA102 и репарационном тесте на *Escherichia coli* В/г WP2 (дикий тип по репарации ДНК), WP67 (poIA) и CM571 (гесА) в вариантах с метаболической активацией и без нее. Штаммы получены из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ФГУП ГосНИИ Генетика, г. Москва, Россия).

Изучение мутагенного действия СОТС «ЭК-2М» и «СК-1» в тесте Эймса (*Salmonella*/микросомы) заключалось в использовании двух основных компонентов: регистрирующего и активирующего. Регистрирующая часть составляла набор индикаторных штаммов *Salmonella typhimurium*, способных регистрировать действие мутагенов, вызывающих как замены пар оснований в молекуле ДНК, так и сдвиг считывания генетического кода. Активирующий компонент включал постмитохондриальный супернатант гомогената печени крыс (фракция S-9) и кофакторы, необходимые для нормального функционирования микросомных систем окисления [4, 5].

Тест Эймса выполняли в 2-х вариантах: без метаболической активации и с системой метаболической активации (в данном случае тестерные бактерии обрабатывались изучаемыми композициями в присутствии микросом печени крыс (фракция S-9) [5].

В качестве негативного контроля использовали растворитель (дистиллированную воду). Перечень используемых химических веществ и их дозировка по отношению к конкретному штамму *Salmonella typhimurium* в условиях с метаболической активацией и без нее (позитивный контроль) представлены в таблице 1.

Таблица 1 — Химические вещества и их дозировка, используемые в качестве позитивного контроля, для тест-штаммов *Salmonella typhimurium*

Штамм <i>Salmonella typhimurium</i>	Наименование химического вещества	Доза, мкг/чашка
I. В эксперименте без метаболической активации		
ТА 1535, ТА 100	Азид натрия	2,0
ТА 97	9-аминоакридин	10,0
ТА 98	2-нитрофлуорен	1,0
ТА 102	Митомицин С	2,0
II. В эксперименте с метаболической активацией		
ТА 98	Бенз(а)пирен	10,0
ТА 1535, ТА 97, ТА 100, ТА 102	Циклофосфамид	500,0

В эксперименте исследовали СОТС в нативном виде и в разведениях 1:1, 1:10, 1:100, 1:1000. Полученные растворы предварительно фильтровали через бактериальные фильтры и непосредственно вносили в среду. В контрольные среды вместо раствора тестируемого вещества вносили равный объем растворителя. Испытание сопровождали контролями стерильности среды и роста тест-штаммов без внесенного тестируемого вещества.

Учет результатов проводили путем подсчета количества колоний ревертантов, выросших на опытных и контрольных чашках. В каждом варианте на каждом уровне дозы использовали по 3 чашки. Оценку полученных результатов проводили согласно методическим указаниям [5], принимая за положительный результат увеличение в 2 раза (или более) частоты мутаций по сравнению с контролем в сочетании с дозовой зависимостью эффекта.

Определение мутагенного действия на тест-штаммах *Escherichia coli* основано на регистрации дифференциальной выживаемости бактерий дикого типа и мутантных бактерий, дефектных по определенным этапам репарации ДНК, контролирующих различные этапы репарационных процессов в бактериальной клетке (мутации *pol A* и *rec A*).

Репарационный тест на *Escherichia coli* является бактериальной тест-системой для учета дифференциальной выживаемости бактерий при действии химических соединений и (или) их метаболитов, индуцирующих в геноме этого организма повреждения ДНК, репарируемые в ходе эксцизионной и пострепликативной репарации. Данный метод предназначен для выявления способности химических веществ или их метаболитов индуцировать повреждения ДНК у индикаторных штаммов *Escherichia coli*. Бактерии обрабатываются тестируемым соединением с системой метаболической активации или без нее в жидкой среде. После инкубации в течение определенного периода времени регистрируется наличие бактериального роста у разных тестерных штаммов при одних и тех же концентрациях тестируемого соединения [5]. При наличии у тестируемого соединения ДНК-повреждающего действия бактериальный рост наблюдается только у штамма дикого типа.

Эксперимент параллельно проводили с использованием микросомальной активирующей смеси и без нее для регистрации действия как прямых, так и непрямых мутагенов [5]. Исследования проводили не менее чем в двух повторностях для каждой концентрации.

Оценку результатов производили визуально по мутности питательной среды и изменению цвета индикатора. Позитивные результаты в этом тесте указывают на то, что тестируемое соедине-

ние индуцирует повреждения ДНК у данного микроорганизма. Негативные результаты в этом тесте указывают на то, что в данных условиях тестируемое соединение не индуцирует повреждения ДНК у *Escherichia coli*.

В отдельной серии опытов *in vitro* методом электрофореза исследовали способность СОТС к потенциальной генотоксичности (повреждение ДНК). В качестве тестерной использовали ДНК фага λ производства «Fermentas» (Литва) [3].

В качестве веществ с доказанной мутагенной активностью (положительный контроль) использовали азид натрия и 9-аминоакридин в концентрации 0,5 %. Отрицательным контролем служила интактная ДНК фага λ (контроль в водном растворе).

Объем реакционной смеси составлял 20 мкл: 10 мкл 0,1М Трис-НСl буфера pH 7,4; 5 мкл ДНК фага λ; 5 мкл исследуемого вещества. Смесь инкубировали в течение 3 часов при 37<sup>0</sup>С, затем в пробирки приливали по 10 мкл смеси, состоящей из буфера, глицерина и лидирующего красителя.

Разделение ДНК проводили с использованием горизонтального электрофореза в 0,5 % агарозном геле. Напряжение 12 В/см в течение 90 мин. В качестве интеркалирующего агента использовали бромистый этидий, лидирующего красителя — бромфеноловый синий.

Пробы вносили в гель (по 10 мкл на дорожку) и проводили электрофорез. Для обнаружения ДНК гели просматривали на трансиллюминаторе и сканировали в ультрафиолетовом свете [3].

**Результаты и их обсуждение**

Результаты опытов *in vitro* по оценке потенциальной мутагенной активности СОТС в тесте Эймса на *Salmonella typhimurium* с метаболической активацией и без нее представлены в таблицах 2, 3.

Таблица 2 — Оценка потенциальной мутагенной активности СОТС «ЭК-2М» и «СК-1» в тесте Эймса (вариант без метаболической активации)

Изучаемые группы	Разведение	Количество колоний ревертантов штаммов <i>Salmonella typhimurium</i>														
		ТА 1535			ТА 97			ТА 98			ТА 100			ТА 102		
		$\bar{X}$ <sup>1)</sup>	$\sigma^2$	$\bar{x}_0/\bar{x}_k$ <sup>3)</sup>	$\bar{X}$	$\sigma$	$\bar{x}_0/\bar{x}_k$	$\bar{X}$	$\sigma$	$\bar{x}_0/\bar{x}_k$	$\bar{X}$	$\sigma$	$\bar{x}_0/\bar{x}_k$	$\bar{X}$	$\sigma$	$\bar{x}_0/\bar{x}_k$
СОТС «ЭК-2М»	Нативный	11,7	1,5	0,95	52,0	2,0	1,07	19,3	4,0	0,78	77,7	2,5	0,76	192,3	6,0	0,98
	1:1	14,7	2,5	1,20	55,0	1,5	1,13	20,7	3,5	0,84	99,3	5,9	0,97	184,0	6,6	0,94
	1:10	10,0	1,0	0,81	41,3	4,0	0,84	18,0	3,6	0,73	92,3	4,0	0,90	186,7	4,2	0,95
	1:100	14,3	3,5	1,16	49,0	3,0	1,01	21,3	5,0	0,86	98,3	3,5	0,96	183,3	4,0	0,93
	1:1000	14,3	2,1	1,16	37,7	2,1	0,77	21,0	4,6	0,85	89,3	3,5	0,87	188,7	6,0	0,96
Положительный контроль		803,3	9,5	65,31	1008,0	25,1	20,70	281,3	15,5	11,40	1010,0	6,0	9,87	852,7	18,9	4,34
Негативный контроль		12,3	2,5	—	48,7	3,1	—	24,7	3,5	—	102,3	4,5	—	196,3	3,1	—
СОТС «СК-1»	Нативный	11,7	3,5	0,98	55,0	3,0	1,14	21,3	3,5	1,08	88,0	3,6	0,94	179,7	4,5	0,93
	1:1	11,3	2,5	0,94	37,3	4,1	0,77	19,7	3,5	1,00	92,3	3,5	0,99	176,7	4,5	0,92
	1:10	16,7	3,1	1,39	48,7	3,5	1,01	24,3	3,5	1,23	96,3	5,1	1,03	191,0	3,6	0,99
	1:100	14,0	4,6	1,17	53,3	3,1	1,10	19,3	4,5	0,98	85,0	6,3	0,91	184,7	2,5	0,96
	1:1000	11,7	3,1	0,98	44,0	3,6	0,91	22,7	4,5	1,15	94,0	5,6	1,01	186,3	3,5	0,97
Положительный контроль		803,3	9,5	66,94	1008,0	25,1	20,87	281,3	15,5	14,28	1010,0	6,0	10,83	852,7	18,9	44,25
Негативный контроль		12,0	3,0	—	48,3	4,2	—	19,7	3,5	—	93,3	4,0	—	192,7	4,6	—

Примечания. В данной таблице и таблице 3: <sup>1)</sup> среднее арифметическое количества колоний; <sup>2)</sup> среднее квадратическое отклонение; <sup>3)</sup> отношение среднего числа колоний ревертантов на чашку в опыте к таковому в негативном контроле.

Таблица 3 — Оценка потенциальной мутагенной активности СОТС «ЭК-2М» и «СК-1» в тесте Эймса в условиях метаболической активации

Изучаемые группы	Разведение	Количество колоний ревертантов штаммов <i>Salmonella typhimurium</i>														
		ТА 1535			ТА 97			ТА 98			ТА 100			ТА 102		
		$\bar{X}^{1)}$	$\sigma^2)$	$\bar{x}_0/\bar{x}_k^{3)}$	$\bar{X}$	$\sigma$	$\bar{x}_0/\bar{x}_k$	$\bar{X}$	$\sigma$	$\bar{x}_0/\bar{x}_k$	$\bar{X}$	$\sigma$	$\bar{x}_0/\bar{x}_k$	$\bar{X}$	$\sigma$	$\bar{x}_0/\bar{x}_k$
СОТС «ЭК-2М»	Нативный	28,0	3,6	1,15	71,3	3,5	1,03	31,0	3,6	0,98	108,3	6,5	1,03	215,7	7,0	0,98
	1:1	20,3	3,5	0,84	72,0	4,6	1,04	32,0	3,6	1,01	99,3	5,5	0,95	211,7	5,5	0,96
	1:10	17,7	2,5	0,73	58,7	3,5	0,85	34,3	3,5	1,08	103,3	8,5	0,98	198,7	4,2	0,90
	1:100	22,7	3,5	0,93	67,3	3,1	0,98	25,7	3,1	0,81	98,3	7,1	0,94	195,3	5,0	0,88
	1:1000	22,0	3,0	0,91	67,0	4,6	0,97	35,7	3,5	1,13	103,7	6,0	0,99	208,7	4,5	0,95
Положительный контроль		805,3	15,3	33,14	1016,0	14,0	14,72	406,0	17,8	12,81	1019,3	10,3	9,71	942,7	14,1	4,27
Негативный контроль		24,3	3,1	—	69,0	3,6	—	31,7	3,1	—	105,0	3,0	—	220,7	4,0	—
СОТС «СК-1»	нативный	21,0	3,6	0,82	65,0	3,0	1,06	32,3	3,1	1,03	103,3	4,7	1,05	196,7	2,5	0,99
	1:1	23,3	3,5	0,91	59,7	4,0	0,97	30,0	3,0	0,96	99,3	3,1	1,01	195,7	2,5	0,99
	1:10	17,7	2,5	0,69	57,3	3,5	0,93	28,0	2,0	0,89	98,7	4,7	1,01	200,7	4,0	1,02
	1:100	18,7	3,1	0,73	63,3	3,5	1,03	30,7	2,5	0,98	95,7	2,5	0,98	193,3	3,1	0,98
	1:1000	24,3	2,1	0,95	57,3	3,1	0,93	30,0	3,6	0,96	101,0	3,0	1,03	203,0	3,6	1,03
Положительный контроль		829	24	32,26	1007	6	16,42	386	16	12,33	1004	16	10,24	945	45	4,79
Негативный контроль		25,7	2,5	—	61,3	2,5	—	31,3	3,1	—	98,0	4,6	—	197,3	4,2	—

Судя по данным таблицы 2, тестируемые СОТС и их разведения в условиях отсутствия системы метаболической активации на различных штаммах *Salmonella typhimurium* не вызывают статистически значимых увеличений ревертантных колоний, их уровни колеблются в допустимых пределах. При внесении в культуральную среду стандартных мутагенов (положительный контроль) отмечается выраженный рост ревертантов по сравнению с отрицательным контролем и опытными группами.

Аналогичные изменения отмечаются и в случаях использования теста Эймса в условиях метаболической активации.

Таким образом, результаты оценки мутагенной активности СОТС «ЭК-2М» и «СК-1» в тесте Эймса в вариантах с полной метаболической активацией и без нее позволяют сделать заключение, что СОТС во всех используемых в эксперименте разведениях не индуцируют статистически значимых превышений количества ревертантных колоний тестерных штаммов *Salmonella typhimurium* ТА 1535, ТА 97, ТА 98, ТА 100 и ТА 102 по сравнению со спонтанными уровнями реверсий ( $x_0/x_k < 2$ ). В то же время при применении классических мутагенов (положительные контроли) отмечается статистически значимое увеличение количества ревертантных колоний по сравнению со спонтанными уровнями реверсий ( $x_0/x_k > 2$ ), что свидетельствует о корректности проведенных исследований.

Сравнительный анализ роста мутантных бактерий и бактерий дикого типа *Escherichia coli*, регистрируемый визуально по мутности и изменению цвета рН-индикатора, под воздействием нативных СОТС и их разведений (1:1, 1:10, 1:100, 1:1000) не выявляет существенных различий в опытных и контрольной группах, что позволяет говорить об отсутствии ДНК-повреждающего действия у обеих композиций в репарационном тесте на *Escherichia coli* в условиях полной метаболической активации и без нее.

Известно, что большинство генотоксических соединений активно взаимодействуют с ДНК и вызывают в ней разнообразные повреждения. Нарушения в структуре ДНК, такие как разрывы нитей или поперечные сшивки изменяют поведение всей макромолекулы, что и положено в основу определения ДНК-повреждающей активности химических соединений. Повреждения ДНК могут возникать при прямом химическом воздействии, которое может быть химическим или ферментативным. Так, алкилированные пуриновые основания превращаются в апуриновые участки, а затем в однонитевые разрывы. Те же превращения могут происходить с помощью ферментов [6, 7].

Результаты исследований по оценке потенциальной генотоксичности СОТС «ЭК-2М» и «СК-1» с использованием тестерной ДНК фага  $\lambda$  отражены на электрофореграмме (рисунок 1).

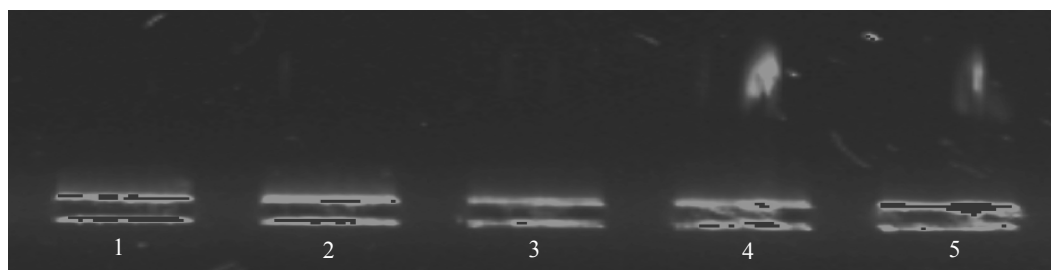


Рисунок 1 — Электрофореграмма, полученная после прямого воздействия на ДНК фага  $\lambda$  СОТС «ЭК-2М» и «СК-1» (трэки: 1 — СОТС «ЭК-2М»; 2 — СОТС «СК-1»; 3 — отрицательный контроль; 4 — азид натрия и 5 — 9-аминокридин)

Как видно на электрофореграмме, СОТС «ЭК-2М» (трэк 1) и «СК-1» (трэк 2) не вызывают изменений электрофоретической подвижности ДНК фага  $\lambda$ , так как она находится по степени миграции под воздействием электрического тока на уровне, соответствующему отрицательному контролю (трэк 3), что свидетельствует об отсутствии ДНК-повреждающей активности (генотоксичности) у обеих композиций. В то время как под воздействием азидо натрия (трэк 4) и 9-аминоакридина (трэк 5), которые служили в качестве позитивного контроля и являются веществами с доказанной генотоксичностью, отмечаются ДНК-повреждающие эффекты, проявляющиеся миграцией высвобожденных фрагментов ДНК из клетки.

#### Выводы

СОТС «ЭК-2М» и «СК-1» не проявляют потенциальных мутагенных свойств в тесте Эймса на штаммах *Salmonella typhimurium* ТА 1535, ТА 97, ТА 98, ТА 100 и ТА 102 в условиях с полной метаболической активацией и без нее.

ДНК-повреждающим действием в репарационном тесте на *Escherichia coli* и на модели электрофореза с использованием ДНК фага  $\lambda$  СОТС «ЭК-2М» и «СК-1» не обладают.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Трахтенберг, И. М. Методы изучения хронического действия химических и биологических загрязнителей / И. М. Трахтенберг, Л. А. Тимофиевская, И. Я. Квятковская; отв. ред. И. М. Трахтенберг. — Рига: Зинатне, 1987. — 172 с.
2. Половинкин, Л. В. Исследование потенциальной способности терпеновых соединений к индукции отдаленных эффектов в опытах *in vitro* и *in vivo* / Л. В. Половинкин // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология, санитария. — 2005. — № 2. — С. 34–39.
3. Абилов, С. К. Ускоренные методы прогнозирования мутагенных и бластомогенных свойств химических соединений / С. К. Абилов, Т. Г. Пороменко // Итоги науки и техники / ВИНТИ. Сер. Токсикология. — М., 1986. — Т. 14. — 171 с.
4. Руководство по испытанию химических веществ ОЭСР № 471 (21.07.1997 г.).
5. МУК. Методы первичного выявления генетической активности загрязнителей среды с помощью бактериальных тест-систем. — М., 1985.
6. Прогнозирование генотоксического действия некоторых природных и синтетических терпенов циклопентанового ряда / А. А. Ушков [и др.] // Здоровье и окружающая среда: сб. науч. тр. / под ред. С. М. Соколова, В. Г. Цыганкова. — Минск: Технопринт, 2001. — С. 341–344.
7. Метилирование ДНК и канцерогенез / Б. А. Лихтенштейн [и др.] // Биохимия. — 2001. — № 66. — С. 235–255.

Поступила 13.06.2013

УДК 616.36: 602.9: 575

## ЭКСПРЕССИЯ МАРКЕРНЫХ ГЕНОВ ГЕПАТОЦИТ-ПОДОБНЫМИ КЛЕТКАМИ, ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫМИ ИЗ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

А. Г. Скуратов, Д. Р. Петренев, А. Н. Кондрачук

Гомельский государственный медицинский университет

**Цель:** исследовать экспрессию маркерных генов гепатоцит-подобными клетками, дифференцированными из мезенхимальных стволовых клеток (МСК).

**Материалы и методы.** Белые крысы линии Вистар, костномозговые МСК; изолированные гепатоциты крысы, полученные методом ферментативной перфузии печени; дифференцировка МСК в гепатоцитарном направлении; световая микроскопия; оценка экспрессии генов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

**Результаты.** Наблюдаемые изменения в профиле экспрессии генов на протяжении этапов дифференцировки свидетельствуют о присутствии в культуре МСК клеток, дифференцированных в гепатоцитарном направлении. Экспрессия генов Carbox, Krt18, Krt19 и Cyt1A1 в большой степени зависит от состава среды, не является постоянной и носит индуцибельный характер. Представляется важным дальнейший поиск молекулярно-генетических маркеров дифференцировки МСК в гепатоцитарном направлении. Полученные результаты демонстрируют необходимость систематизации имеющихся данных об изменениях уровня экспрессии генов при дифференцировке МСК в гепатоциты с целью унификации условий оценки профиля экспрессии генов.

**Ключевые слова:** мезенхимальные стволовые клетки, изолированные гепатоциты, гепатоцитарная дифференцировка, экспрессия генов.

## EXPRESSION OF MARKER GENES BY HEPATOCYTE-LIKE CELLS DIFFERENTIATED FROM MESENCHYMAL STEM CELLS

A. G. Skuratov, D. R. Petrenyov, A. N. Kondrachuk

Gomel State Medical University

**Objective:** to investigate the expression of marker genes by hepatocyte-like cells differentiated from mesenchymal stem cells (MSCs).

**Materials and methods.** Wistar white rats, bone marrow MSCs, isolated hepatocytes of the rats were obtained by enzymatic perfusion of liver; differentiation of MSCs in hepatocyte direction; light microscopy; investigation of expression of genes by polymerase chain reaction (PCR).

**Results.** The observed changes in the gene expression profile during the stages of differentiation indicate the presence of the cells differentiated into hepatocytic direction in MSCs culture. The expression of Carbox, Krt18, Krt19 Cyt1A1 genes depends on the composition of the medium and is not permanent and inducible in nature. It is