



**IX СЪЕЗД БЕЛОРУССКОГО ОБЩЕСТВА  
ГЕНЕТИКОВ И СЕЛЕКЦИОНЕРОВ**

**Международная научная конференция**

**ОТ КЛАССИЧЕСКИХ МЕТОДОВ  
ГЕНЕТИКИ И СЕЛЕКЦИИ  
К ДНК-ТЕХНОЛОГИЯМ**

**(к 95-летию со дня рождения академика  
Н.В. Турбина)**

**Материалы конференции**



**Гомель, 2-5 октября 2007 г.**

**ГЕНО- И ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА  
В ЛИМФОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА *IN VITRO*****О.В.Даливеля, Р.И.Гончарова***Институт генетики и цитологии НАН Беларуси,  
Беларусь, 220072, Минск, ул. Академическая, 27,  
e-mail: R.Goncharova@igc.bas-net.by*

Анализ современных данных указывает на свободно-радикальный механизм действия большинства мутагенов окружающей среды, связь окислительного стресса с различными патологическими состояниями и болезнями, необходимость выявления путей предотвращения окислительных повреждений ДНК в целях профилактики повышенной заболеваемости. В связи с этим начаты исследования цито- и генотоксичности окислительного стресса, моделируемого пероксидом водорода в клетках человека *in vitro*. Эксперименты проведены на лимфоцитах здоровых доноров. Выделение лимфоцитов из периферической венозной крови проводили центрифугированием в градиенте Histopaque-1077 в течение 30 мин., после чего их отмывали и инкубировали при 37°C в среде RPMI-1640 с добавлением инактивированной телячьей сыворотки (10%) в течение 2–3-х ч. Обработка пероксидом водорода в дозах 50, 70 и 100  $\mu\text{M}$  проводилась в течение 1 мин. с последующей отмывкой. Выживаемость клеток изучена с помощью окраски клеточной суспензии трипановым синим. Метод основан на том, что краситель проникает только в клетки с поврежденной мембраной. Подсчитывался процент погибших клеток, окрашенных в голубой цвет. Генотоксичность пероксида водорода оценивалась методом ДНК-комет (щелочной гель-электрофорез единичных клеток), который позволяет учитывать первичные повреждения ДНК различной природы. Исследована зависимость генотоксичного эффекта от дозы  $\text{H}_2\text{O}_2$  и времени инкубации лимфоцитов после мутагенного воздействия. Наблюдаемая спонтанная гибель лимфоцитов не превышала 2%, под влиянием  $\text{H}_2\text{O}_2$  она увеличивалась до 4–6%. Зависимость “доза-эффект” носила линейный характер (коэффициент корреляции  $r = 0,99$ ). Таким образом, в изученном диапазоне доз обнаружен слабый цитотоксичный эффект  $\text{H}_2\text{O}_2$ , указывающий на возможную цитотоксичность других прооксидантных агентов. Установленная зависимость клеточной гибели от дозы позволяет судить об опасности более высоких концентраций изученного мутагена. Эти результаты согласуются с данными других авторов [Wijetane et al., 2005], которые показали, что при концентрациях  $\text{H}_2\text{O}_2$  более 50  $\mu\text{M}$  усиливается проницаемость мембран клеток карциномы кишечника, повышается активность глутатион-пероксидазы и подавляется активность супероксиддисмутазы. Последнее свидетельствует об ослаблении антиоксидантной защиты клеток, что может приводить к негативным последствиям. Методом ДНК-комет показан зависимый от дозы генотоксичный эффект  $\text{H}_2\text{O}_2$ . При концентрации 100  $\mu\text{M}$  наблюдалось 10-кратное увеличение частоты повреждений ДНК по сравнению с их эндогенным уровнем. Анализ кинетики уровня окислительных повреждений во времени указывал на наиболее эффективную репарацию ДНК в течение первых 15 мин. и ее завершение за 2 ч. Установленные закономерности индукции и репарации окислительных повреждений ДНК служат основой для решения других научно-практических задач (1) диагностики на основе применения метода ДНК-комет геномной нестабильности у различных контингентов лиц, включая группы профессионального генетического риска; (2) выяснения роли репарации ДНК в этиологии и патогенезе ряда наследственных заболеваний; (3) изучения механизмов действия антимутагенов, обусловленных модуляцией эффективности и скорости репарации ДНК.