



7universum.com
UNIVERSUM:
МЕДИЦИНА И ФАРМАКОЛОГИЯ

UNIVERSUM: МЕДИЦИНА И ФАРМАКОЛОГИЯ

Научный журнал
Издается ежемесячно с ноября 2013 года
Является печатной версией сетевого журнала
Universum: медицина и фармакология

Выпуск: 2(96)

Февраль 2023

Москва
2023

ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ

DOI – 10.32743/UniMed.2023.96.2.14979

ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ДЕЛАПОНА**Халиков Пулат Хужамкулович**

д-р биол. наук,
проф. кафедры гистологии и медицинской биологии
Ташкентской Медицинской Академии,
Республика Узбекистан, г Ташкент

Курбанов Абдубурхон Кузибаевич

канд. мед. наук,
доц. кафедры гистологии и медицинской биологии
Ташкентской Медицинской Академии,
Республика Узбекистан, г Ташкент

Даминов Акмал Охунжонович

канд. мед. наук,
доц. кафедры гистологии и медицинской биологии
Ташкентской Медицинской Академии,
Республика Узбекистан, г Ташкент

Шигакова Люция Анваровна

ассистент кафедры гистологии и медицинской биологии
Ташкентской Медицинской Академии,
Республика Узбекистан, г Ташкент
E-mail: lutsiya17111990@gmail.com

STUDYING THE CYTOGENETIC EFFECT OF DELAPON***Pulat Khalikov***

*Doctor of Biological Sciences, Professor
of the Department of Histology and Medical Biology
Tashkent Medical Academy,
Uzbekistan Tashkent*

Abduburkhon Kurbanov

*Candidate of Medical Sciences, Associate Professor
of the Department of Histology and Medical Biology
Tashkent Medical Academy,
Uzbekistan Tashkent*

Akmal Daminov

*Candidate of Medical Sciences, Associate Professor
of the Department of Histology and Medical Biology
Tashkent Medical Academy,
Uzbekistan Tashkent*

Lucia Shigakova

*Assistant of the Department of Histology and Medical Biology
Tashkent Medical Academy,
Uzbekistan Tashkent*

АННОТАЦИЯ

При оценке генетического эффекта пестицидов не маловажное значение имеет изучение частоты мутации хромосом в соматических и генеративных клетках. В опытах изучали типы мутаций хромосом в костном мозге и спектр мутаций хромосом вызванных далапоном. Дана сравнительная характеристика о чувствительности половых и соматических клеток на действие далапона. Цитогенетический эффект далапона изучали в соматических (костный мозг) клетках с помощью тестов учета, aberrаций хромосом в метафазе в клетках костного мозга. Данные о генетическом эффекте пестицидов, полученных на животном объекте, особенно на млекопитающие, с учетом aberrаций хромосом малочисленны. Нами впервые изучен генетический эффект далапона, в зависимости от примененных доз на млекопитающих с использованием таких тестов, как учет aberrаций хромосом в клетках костного мозга и семенниках. Классическое преставление об образовании перестроек хромосом допускает возможность образования микрокольца как одноударной перестройки в микропетле хромосомой нити. Частично в составе микрофрагментов могут иметься малые концевые делеции, которые, несомненно, входят в одноударный компонент.

ABSTRACT

When assessing the genetic effect of pesticides, the study of the frequency of chromosome mutations in somatic and generative cells is of no small importance. In the experiments, we studied the types of chromosome mutations in the bone marrow and the spectrum of chromosomal mutations caused by delapon. A comparative characteristic of the sensitivity of germ and somatic cells to the action of delapon is given. The cytogenetic effect of dalapon was studied in somatic (bone marrow) cells using tests for accounting, chromosome aberrations in metaphase in bone marrow cells. There are few data on the genetic effect of pesticides obtained on an animal object, especially on mammals, taking into account chromosome aberrations. We have for the first time studied the genetic effect of dalapon, depending on the doses applied, in mammals using tests such as accounting for chromosome aberrations in bone marrow and testis cells. The classical notion of the formation of chromosome rearrangements admits the possibility of the formation of a microloop as a single-hit rearrangement in a microloop of a chromosome strand. Partially, microfragments may contain small terminal deletions, which are undoubtedly included in the single-hit component.

Ключевые слова: костный мозг, хромосомные мутации, пестициды, далапон, цитогенетический эффект, метафазы.

Keywords: bone marrow, chromosomal mutations, pesticides, delafon, cytogenetic effect, metaphases.

Далапон – производное хлорированных алифатических кислот – белый с желтым оттенком кристаллический порошок, хорошо растворяется в воде. Технический препарат содержит 80-85% действующего вещества. Применяется как гербицид для борьбы с однодольными злаковыми сорняками. Далапон – малотоксическое соединение: ЛД₅₀ для мышей равна 6000 мг/кг. Кумулятивные свойства выражены слабо. Интоксикация сопровождается снижением содержания SH-групп в сыворотке крови, возрастанием количества аскорбиновой кислоты в надпочечниках, появлением белка и сахара в моче, увеличением весовых коэффициентов печени, надпочечников, щитовидной железы и гипофиза.

Использовали следующие дозы далапоны: ЛД₅₀; далапон - 320, 640, 1280, 2560 и 5000 мг/кг (1/18, 1/9, 1/4, 1/2 и близкая к ЛД₅₀). Далапон животным вводили внутривенной иглой с затупленным концом. Во всех опытах для цитогенетического анализа клеток костного мозга животных забивали через 24 ч после введения далапона.

Для учета aberrаций хромосом в метафазе препараты из клеток костного мозга готовили по общепринятой методике [1]. Мышам внутрибрюшинно вводили 0,04%-ный раствор колхицина в количестве 0,01 мл/г массы. Через час животных забивали и быстро извлекали бедренные кости. Костный мозг вымывали теплым (37°C) гипотоническим раствором в центрифужную пробирку медицинским шприцем. В качестве гипотонического раствора использовали 56%-ный раствор хлористого калия. Клеточную суспензию костного мозга инкубировали в гипотонической среде в течение 5 мин при температуре 37°C.

Затем эту суспензию центрифугировали 5 мин при 800-1000 об/мин. Сливая над осадочную жидкость, клетки костного мозга фиксировали смесью метилового спирта с ледяной уксусной кислотой (3 части метилового спирта и 1 часть уксусной кислоты). Фиксатор меняли 3-4 раза. После этого содержимое пробирки (примерно 0,5 мл фиксатора) встряхивали и получали однородную взвесь клеток в фиксаторе. Продолжительность фиксации 1-2 ч. На чистое предметное стекло наносили 2-3 капли суспензии клеток в фиксаторе. Фиксатор выжигали и препараты окрашивали краской, изготовленной из смеси оксалата аммония и кристалла виолета.

Хромосомные препараты анализировали на микроскопе МБИ-6 с иммерсионным объективом 90^x. Для анализа выбирали метафазные пластинки, в которых все хромосомы размещались отдельно друг от друга. Необходимые клетки фотографировали под микроскопом МБИ-6 с микронасадкой. Анализировали возможные типы перестроек хромосом, выявляемых в метафазе. Частоту мутаций хромосом в костном мозге определяли по числу клеток с перестройками хромосом. При учете перестроек хромосом в каждом варианте опыта использованы не менее 6

Данные о частоте aberrаций хромосом в клетках костного мозга мышей при действии разных доз далапона представлены в табл. 1.

Цитогенетическую активность далапона исследовали при дозах 320, 640, 1280, 2560, 5000 мг/кг (соответственно 1/18, 1/9, 1/4, 1/2 и близкой к ЛД₅₀). Низкие дозы далапона были не эффективными – частота aberrаций хромосом после введения 320, 640 мг/кг оставалась приблизительно на уровне

контроля (соответственно 0,71 и 0,68%). Достоверное повышение числа перестроек хромосом отмечалось после введения высоких доз далапона. Так, число перестроек хромосом при дозе 1280 мг/кг увеличилось более чем в 3 раза по сравнению с контролем (1,96%), а при 2560 и 5000 мг/кг - в 4 раза (соответственно 2,64. 2,41%).

Необходимо отметить, что исследования генетического эффекта пестицидов, используемых в хлопководстве, проведены в основном на микроорганизмах или растениях [2].

Таблица 1.

Частота aberrаций хромосом в клетках костного мозга мышей при действии разных доз далапона

Доза мг/кг	Число изученных		метафаза с перестройками		Перестройки	
	Животных	метафаз	число	%	Всего	на 100 метафаз
0	5	795	5	0.62±0.27	5	0.62+0.83-0.42
320	5	695	5	0.71±0.31	5	0.71+0.95-0.48
640	5	725	5	0.68±0.30	5	0.68+0.92-0.46
1280	5	714	14	1.96±0.51	14	1.96+1.32-0.88
2560	5	719	19	2.64±0.59	20	2.78+1.51-1.08
5000	5	694	14	2.41±0.53	16	2.30+1.43-0.48

Необходимо отметить, что исследования генетического эффекта пестицидов, используемых в хлопководстве, проведены в основном на микроорганизмах или растениях [3].

По нашим экспериментальным данным далапон только при сравнительно высоких дозах влияли на генетический аппарат клеток костного мозга мышей.

Однако при дальнейших увеличениях доз далапона увеличение числа перестроек хромосом не наблюдалось. Даже при действии самых высоких доз препаратов частота aberrаций хромосом оставалась такой же, как и при более низких дозах.

Обращает внимание и тот факт, что среди изученных пестицидов у трефлана и далапона мутагенный эффект проявился при воздействии сравнительно невысокой дозы (1/4 ЛД₅₀), однако при такой дозе изофос и которая не влияли на хромосомы клеток костного мозга мышей. У изофоса мутагенный эффект проявился с дозы 1/2 ЛД₅₀, а у которана - в дозе, близкой к ЛД₅₀. Эти данные свидетельствуют о разной степени мутагенности пестицидов, что, необходимо учитывать при их применении [1].

По данным литературы при действии некоторых химических мутагенов, а также радиации отмечается линейная зависимость выхода aberrаций хромосом от дозы мутагена. Причем с увеличением дозы возрастает не только число поврежденных клеток, но и количество повреждений на клетку. Например, при действии тиофосамида (Тио- ТЭФ) наблюдается линейная зависимость выхода aberrаций хромосом в клетках костного мозга мышей. Результаты наших опытов показали, что прямо пропорциональной зависимости появления структурных мутаций хромосом от дозы далапона.

Обращает на себя внимание насыщение в появлении перестроек хромосом, наступающее при довольно низкой их частоте: при приблизительно 2-5 перестройках в одной клетке. При этом максимальное число разрывов для образования перестроек хромосом равно 1 и 2.

Таким образом, не для всех химических мутагенов можно получить высокий уровень aberrантных метафаз. Это обусловлено либо цитотоксичностью пестицидов при относительно низкой их мутагенности, что не позволяет клеткам достичь стадии метафазы после действия такими веществами, либо для действия такого рода соединений имеется "насыщенная" концентрация, при которой отмечается максимально высокий уровень aberrантных метафаз (в наших опытах - до 6%).

С нашей точки зрения клетки, сильно поврежденные действием высоких доз пестицидов, задерживаются до метафазы. Вероятно, именно за счет таких клеток и снижаются видимые проявления мутагенного эффекта пестицида, тогда как в действительности он резко выражен. В связи в этом при дальнейшем увеличении дозы не происходит нарастания цитогенетического эффекта. Замедление темпа выхода число перестроек хромосом при высоких дозах этих препаратов наблюдали, и другие исследователи, которые считают, что такое явление нельзя объяснить только интоксикацией [4].

Отмеченные перестройки хромосом при высоких дозах далапона в основном были хроматидного типа. Наблюдали изолюкусные концевые делеции, хроматидные концевые одиночные делеции, хроматидные транслокации, микрофрагменты. Изолюкусные концевые делеции были как со слиянием, так и без него. Микрофрагменты можно считать микрокольцами. Среди хроматидных перестроек часты концевые одиночные делеции, за ними по численности шли микрофрагменты и изолюкусные делеции, транслокации встречались редко.

Хромосомные перестройки наблюдались в малом количестве. Это свидетельствует о том, что далапон, как и другие химические мутагены, вызывают в хромосомах потенциальные изменения, превращаются в хроматидные мутации в пост синтетической фазе (G₂).

Таким образом на основании данных качественно-количественного анализа, по тесту учета аббераций хромосом на клетках костного мозга мышей по мутагенной активности следует отнести к умеренно опасным пестицидам.

Список литературы:

1. Халиков П.Х. Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук. «Цитогенетические и цитоморфологические методы изучения действия пестицидов» 1994. С 60-75.
2. Имамалиев И.Х., Весманова О.Я., Эргашев А.К. Дифференциальная чувствительность хромосом к действию дефолианта и пестицидов. “Всесоюз совешание” Эколого-генетический мониторинг состояние окружающей среды. Караганда. 1990. С-54.
3. Халиков П.Х., Курбанов А.К., Шигакова Л.А. Коррекция генетического результата далапона (ГЕРБИЦИД) с помощью экстаков растений : дис. – Ўзбекистон, Тошкент, 2022 .
4. Курбанов А.К., Халиков П.К., Шигакова Л.А., Исламова С.А., Ж.К.К. (2022). Изучение условий труда и загрязнения окружающей среды при применении гербицида Зеллек. Международный журнал научных тенденций , 1 (2), 91-94.