

© И. А. Федорова¹,
Н. В. Полуконова¹,
К. Н. Дворецкий²,
С. И. Богословская³

Саратовский государственный
медицинский университет,

¹ — кафедра общей биологии,
фармакогнозии и ботаники,

² — кафедра медбиофизики,

³ — кафедра фармакологии
и клинической фармакологии

✳ **Проведен морфометрический анализ изменения активности ядрышкового организатора (ЯО), колец Бальбиани (КБ) — КБ_В, КБ_{1G}, и КБ_{2G}, пуфа плеча В хромосомы I, компактности хромосом под действием холинотропных препаратов. Наиболее чувствительный критерий — компактность, устойчивый к стрессовому воздействию — ЯО. Выявлены противоположные цитогенетические эффекты атропина и пилокарпина — в период с 24 до 72 ч. при действии холиноблокатора (атропина) функциональная активность политенных хромосом (ПХ) в целом снижалась, при действии холиномиметика (пилокарпина) — повышалась.**

✳ **Ключевые слова:** функциональная активность; политенные хромосомы; компактность; ядрышковый организатор; кольца Бальбиани; *Chironomus plumosus*; холинотропные препараты; атропин; пилокарпин.

УДК 575:[612.014.24:615.322:547.94]:611.08(045)

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ *CHIRONOMUS (DIPTERA)* ПОД ВЛИЯНИЕМ ХОЛИНОТРОПНЫХ ПРЕПАРАТОВ АТРОПИНА И ПИЛОКАРПИНА

ВВЕДЕНИЕ

Холинотропные препараты пилокарпин и атропин оказывают противоположное влияние на вегетативную нервную систему и секреторную активность желез человека и животных: м-холиномиметик пилокарпин стимулирует секреторную деятельность, а м-холиноблокатор атропин ее угнетает (Levin, 1992; Busch, Borda, 2007). В связи с широким применением в медицине нейротропных лекарственных препаратов, воздействующих на мускариновые холинореактивные системы, остается актуальным изучение их влияния на клеточном и субклеточном уровнях. Так, исследования рецепторной избирательности действия холинопозитивных и холинонегативных соединений на гидробионтах *Daphnia magna*, сопоставленные с результатами исследований, выполненных на крысах, позволили рекомендовать дафний в качестве альтернативного тест-объекта (Тонкопий и др., 1999; Подосиновичева и др., 2002). Анализировали молекулярные механизмы действия ненейронального ацетилхолина на клетку и иммунотропные эффекты антагонистов мускариновых рецепторов в профилактике водоиммерсионного стресса у мышей (Нежинская и др., 2006, 2008 б); выявлена ведущая роль холинергических механизмов в фармакологических эффектах подавления шоковой реакции (Нежинская и др., 2008 а).

Индикатором воздействия на молекулярно-генетическом уровне являются изменения функциональной активности интерфазных хромосом эукариотических организмов (Тимошевский, Назаренко, 2005). Удобным модельным объектом служат политенные хромосомы (ПХ) клеток слюнных желез личинок двукрылых насекомых — хирономид (Жимулёв, 1992, 1994; Кикнадзе и др., 1996; Петрова, Клишко, 2001). Так, в рамках сравнительно недавно возникшего научного направления «экологической» кариологии, изучающей реакцию генома эукариот на воздействие экологических факторов, проводятся исследования изменений структуры и функциональной активности ПХ, как в природных популяциях, так и в лабораторных условиях (обзор по: Полуконова, Фёдорова, 2006). Существующие данные о пуфинге, как достаточном условии для синтеза РНК, позволяют проводить оценку функциональной активности по размерам активных районов при обычной этилорсенновой окраске. Так, даже при проведении мечения ³H-уридином свечение может и не наблюдаться, в то время как транскрипция активно идет (Beer mann, 1966), что связано с отсутствием превращения экзогенного ³H-уридина в нуклеозид трифосфаты из-за их большого пула, уже накопленного клеткой (Beer mann, 1966; Жимулёв, 1994).

Наличие м-холинергической нейромедиации у *Chironomidae* (Beauvais et al., 1999; Turberg et al., 1999) делает ядерный аппарат клеток слюнных желез, высокочувствительных к воздействию холинотропных препаратов, уникальным объектом для изучения их влияния на активность специфических участков ПХ. Было показано, что под действием пилокарпина секрет из слюнных желез хирономид полностью выводился; во время восстановления секреции слюнных желез *Chironomus thummi* (= *Ch. riparius*) и *Camptochironomus tentans* после снятия влияния пилокарпина увеличивалась активность пуфов и колец Бальбиани (КБ) хромосомы IV, что также подтверждалось увеличением включенного ³H-уридина в 15 раз (Beer mann, 1973; Clever et al., 1969; Валеева, 1975; Mähr et al., 1980; Stockert, 1990).

Поступила в редакцию 05.05.2009
Принята к публикации 02.07.2009

Фармакологической особенностью атропина, как холинотропного препарата, служит способность, наоборот блокировать м-холинорецепторы, его введение в организм сопровождалось уменьшением секреции слюнных желез (Grossbach, 1977).

Динамику и сравнение активности ПХ под действием холинотропных препаратов-антагонистов ранее не изучали. Между тем, такие исследования необходимы для установления и прогнозирования ответной реакции генетического аппарата эукариотических организмов в целом на воздействие холинотропных препаратов в связи с их широким применением в современной практической медицине.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сопоставление цитогенетических эффектов холинотропных препаратов на основе сравнительного анализа изменения функциональной активности ПХ личинок *Chironomus plumosus* под действием атропина и пилокарпина *in vivo*.

МЕТОДИКА

В качестве испытуемого объекта использованы личинки IV возраста и 7 фазы зрелости *Ch. plumosus*, собранные из природного водоёма Саратовской области в 1 декаде марта 2007 г. Возраст и фазу личинок устанавливали по таблице Н. Б. Ильинской, М. С. Иордана (Ильинская, Иордан, 1975).

Личинки были адаптированы в течение суток к лабораторным условиям. Выбор такого периода адаптации личинок был обусловлен тем, что у зимующих, диапазирующих личинок *Ch. plumosus* уже через 60 мин. при повышении температуры до 5–10°C индуцируется ряд пухов, что может свидетельствовать об определенном уровне активности хромосом (Ильинская, Мартынова, 1978; Ильинская, 1981). Эксперименты проводили в пластиковых ёмкостях объёмом 250 мл при комнатной температуре в статических условиях, без субстрата (для того, чтобы избежать

адсорбции препарата на частицах ила), в отстоянной водопроводной воде при pH = 7 (РД 52.24.635-2002). Экспозиция влияния холинотропных препаратов на личинок составляла от 12 до 72 ч, что соответствовало острому периоду воздействия, поэтому кормление животных не осуществляли.

Величины LC_{50} определены методом пробит-анализа (Коросов, Калинкина, 2003) и аналитическим экспресс-методом (Фрумин, 1991). В эксперименте для выявления цитогенетических эффектов при интоксикации атропином использовали концентрации, лежащие в диапазоне 0,1–1 мг/мл, пилокарпином — 0,5–5 мг/мл. При каждой экспозиции и концентрации исследовали 10 личинок (по 10 клеток слюнных желёз от каждой личинки). Всего исследовано около 480 личинок хирономид, из которых 80 — составили контрольную группу, а 400 — были подвергнуты воздействию холинотропных препаратов. Препаративная форма анализируемых лекарственных веществ — атропина сульфат (ФГУП Московский эндокринный завод, Россия), и пилокарпина гидрохлорид (Ферейн, Россия).

Сразу после окончания эксперимента личинок фиксировали в спирт-уксусной смеси (96 % этанол, ледяная уксусная кислота, 3:1). Препараты ПХ готовили по этилоорсеиновой методике (Дёмин, 1989). Временные препараты ПХ анализировали с помощью светового микроскопа «Люмипам» при увеличении 7×60. Фотографии хромосом получали при помощи микрофотонасадки к микроскопу Axiostar. Составлена фототека, включающая фотографии цитогенетических эффектов из каждого проведенного эксперимента.

В качестве морфологических критериев функциональной активности ПХ выбраны три типа их активных районов: ЯО — локус хромосомы, локализован — в отделе 2 хромосомы IV; КБ — локусы, локализованные, согласно классификации Ф. Л. Максимова (1976) в 16 районе плеча В хромосомы I, в 7 и 8 отделах хромосомы IV; и пух в 21 районе хромосомы I. При количественной оценке функциональной активности ПХ использованы индексы (табл. 1),

Таблица 1

Показатели функциональной активности политенных хромосом двукрылых насекомых

Индекс		Расчет индекса для <i>Ch. plumosus</i>	Авторы, предложившие индекс
Название	Обозначение		
Индекс компактности хромосомы III	CR*	Отношение абсолютной длины плеча E к ширине центромеры	Ильинская, 1989, 1990
Коэффициент активности (КА) ЯО хромосомы IV	NOR*	Отношение максимального диаметра ядрышка к ширине интактного района 6 хромосомы IV	Stockert, 1990
КА КБ1 хромосомы IV	BR _{1G} R*	Отношение максимального диаметра КБ1 к ширине интактного района 6 хромосомы IV	Лычёв, 1968
КА КБ2 хромосомы IV	BR _{2G} R*	Отношение максимального диаметра КБ2 к ширине интактного района 6 хромосомы IV	Лычёв, 1968
КА КБ плеча В хромосомы I	BR _B R*	Отношение максимального диаметра КБ плеча В к ширине интактного района 17 того же плеча хромосомы I	Лычёв, 1968
КА видоспецифичного пуха плеча В хромосомы I	P _B R*	Отношение максимального диаметра пуха 21 района плеча В к ширине интактного диска 21	Лычёв, 1968

* — индексы, обозначения для которых предложены нами.

Таблица 2

Значения вероятности статистически достоверных различий контрольных и опытных результатов

Препарат		Атропин, мг/мл					Пилокарпин, мг/мл				
Индекс	Время, ч	0,10	0,13	0,20	0,40	1,00	0,50	0,67	1,00	2,00	5,00
К/Е	12	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,30	< 0,01
	24	0,54	< 0,01	0,03	< 0,01	0,41	0,48	0,89	0,05	0,39	0,05
	48	< 0,01	0,62	< 0,01	0,75	0,04	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,05	< 0,01
	72	< 0,01	0,05	< 0,01	0,15	0,05	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	—
Кп	12	0,05	0,81	0,51	0,08	0,18	0,03	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
	24	0,10	0,01	0,30	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,02	0,41	< 0,01	< 0,01
	48	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,19	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,19
	72	0,55	< 0,01	0,05	0,05	0,98	0,54	0,76	0,14	0,18	—
BRRB	12	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,17	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
	24	< 0,01	0,04	0,27	0,82	0,09	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
	48	0,26	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
	72	0,61	0,14	< 0,01	< 0,01	0,03	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,33	—
BRR1G	12	0,12	0,51	0,05	< 0,01	0,33	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
	24	0,43	0,22	0,04	0,08	0,90	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
	48	0,09	< 0,01	< 0,01	0,25	< 0,01	0,45	0,90	0,03	0,64	0,05
	72	< 0,01	< 0,01	0,09	< 0,01	0,04	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	—
BRR2G	12	0,23	0,93	0,41	< 0,01	0,02	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,33
	24	0,02	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,13
	48	0,28	< 0,01	0,70	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
	72	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,05	0,50	0,76	—
SSPB	12	0,30	0,53	0,04	< 0,01	0,32	0,05	0,23	0,01	0,40	0,93
	24	< 0,01	0,96	0,20	0,48	0,01	0,10	0,71	0,52	0,18	< 0,01
	48	0,01	0,58	0,35	0,56	0,21	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
	72	0,59	0,77	0,41	0,78	0,14	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	

надежность применения которых определяется их независимостью от абсолютных размеров хромосом. Активность ПХ *Ch. plumosus* оценивали по установленным пределам значений индекса компактности (CR) от $5,7 \pm 0,1$ до $10,3 \pm 0,1$: уменьшение значения CR — ниже $5,7 \pm 0,1$, а также его увеличение выше $10,3 \pm 0,1$, согласно Н. Б. Ильинской (Ильинская, 1989), свидетельствовали о снижении функциональной активности ПХ. При сравнении индексов экспериментальные данные были нормированы на контроль (значения в контрольной группе были приняты за единицу).

Статистический анализ проводили в среде специализированных пакетов Excel и Statistica 6. Для оценки статистической значимости различий между значениями морфометрических показателей в контрольной выборке и при воздействии разных концентраций лекарственных

препаратов использовали однофакторный дисперсионный анализ при $p \leq 0,05$ (табл. 2).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Изменение функциональной активности хромосом по индексу компактности и индексу активности ЯО. Функциональная активность ПХ по индексу компактности (CR) под влиянием атропина была резко повышена к 12 ч (изменение значения индекса компактности обратно пропорционально изменению функциональной активности ПХ). Через 24 ч после начала воздействия разными концентрациями атропина активность понижалась — отмечалась или тенденция к ее восстановлению до состояния в контроле, или ее восстановление. К 48 ч. активность ПХ вновь возрастала при действии концентраций 0,1 мг/мл, 0,2 мг/мл

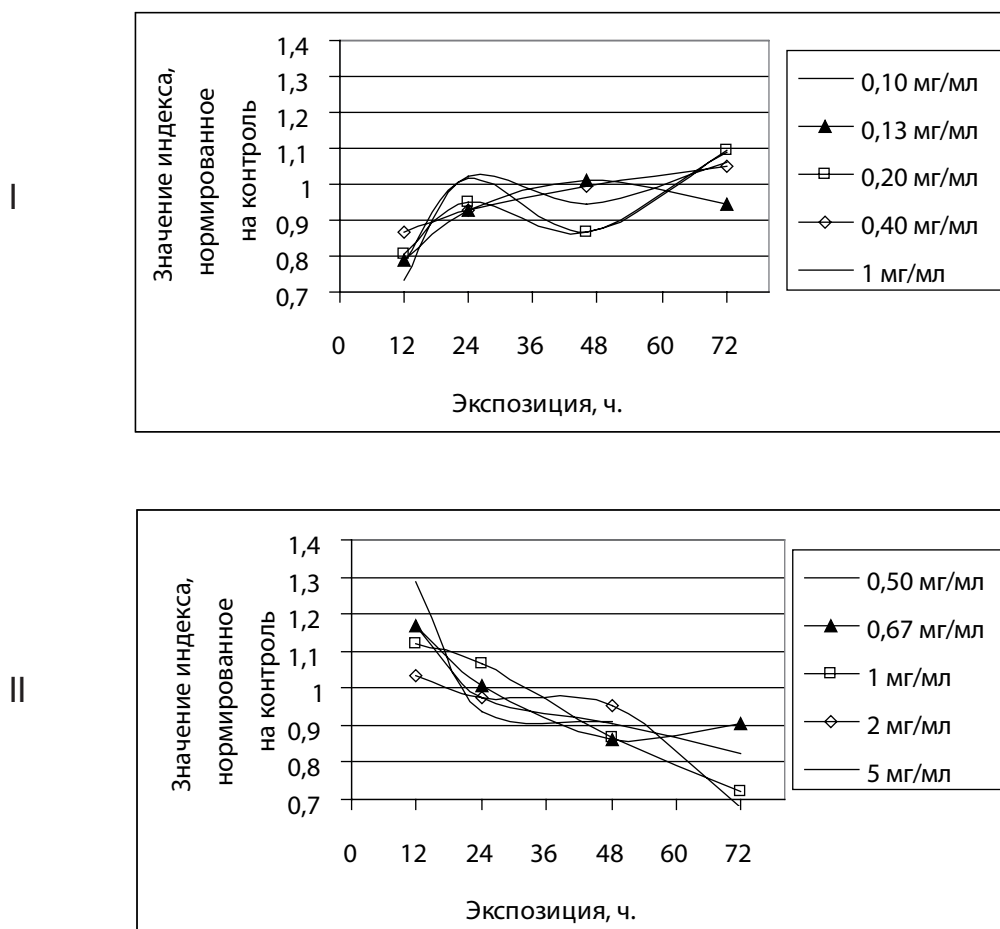


Рис. 1. Изменение функциональной активности ПХ по индексу компактности под влиянием: I — атропина, II — пилокарпина

и 1 мг/мл или не отличалась от контроля — при других концентрациях. К 72 ч. — при действии большинства концентраций атропина наблюдалось снижение активности не только до состояния контроля, но и ниже (рис. 1, I).

Функциональная активность ПХ по индексу компактности под влиянием большинства концентраций пилокарпина к 12 ч. резко снизилась. Через 24 ч. после начала воздействия большинства концентраций активность восстанавливалась до состояния контроля. С 24 до 72 ч. отмечалась устойчивая тенденция повышения активности по сравнению с контролем (рис. 1, II).

Активность ЯО под влиянием разных концентраций атропина к 12 ч. была снижена или не отличалась от состояния в контроле. К 24 и 48 ч. наблюдалось снижение активности ЯО при действии большинства концентраций. Тенденция к восстановлению наблюдалась к 72 ч. при большинстве концентраций, а восстановление — при действии концентраций 0,1 мг/мл и 1 мг/мл (рис. 2, I).

Активность ЯО под влиянием большинства концентраций пилокарпина к 12 ч. резко повышалась, оставаясь повышенной до 48 ч., после чего плавно снижалась и к 72 ч. — восстанавливалась до состояния в контроле (рис. 2, II).

Изменение активности колец Бальбиани хромосомных плеч В и G и пуфа плеча В. Активность КБ_В при действии большинства концентраций атропина с 12 до 72 ч. экспозиции по сравнению с контролем снижалась, восстанавливаясь до состояния в контроле только при влиянии концентраций 0,2 мг/мл, 0,4 мг/мл и 1 мг/мл к 24 ч., 0,1 мг/мл — к 48 ч. и 0,1 мг/мл и 0,13 мг/мл — к 72 ч. после начала воздействия (рис. 3, I).

В то время как при действии пилокарпина активность участка с 12 до 72 ч. экспозиции по сравнению с контролем повышалась, восстанавливаясь до состояния в контроле только при влиянии 0,2 мг/мл к 72 ч. после начала воздействия (рис. 3, II).

Изменения активности КБ_{1G} и КБ_{2G} при действии большинства концентраций атропина с 12 до 72 ч. экспо-

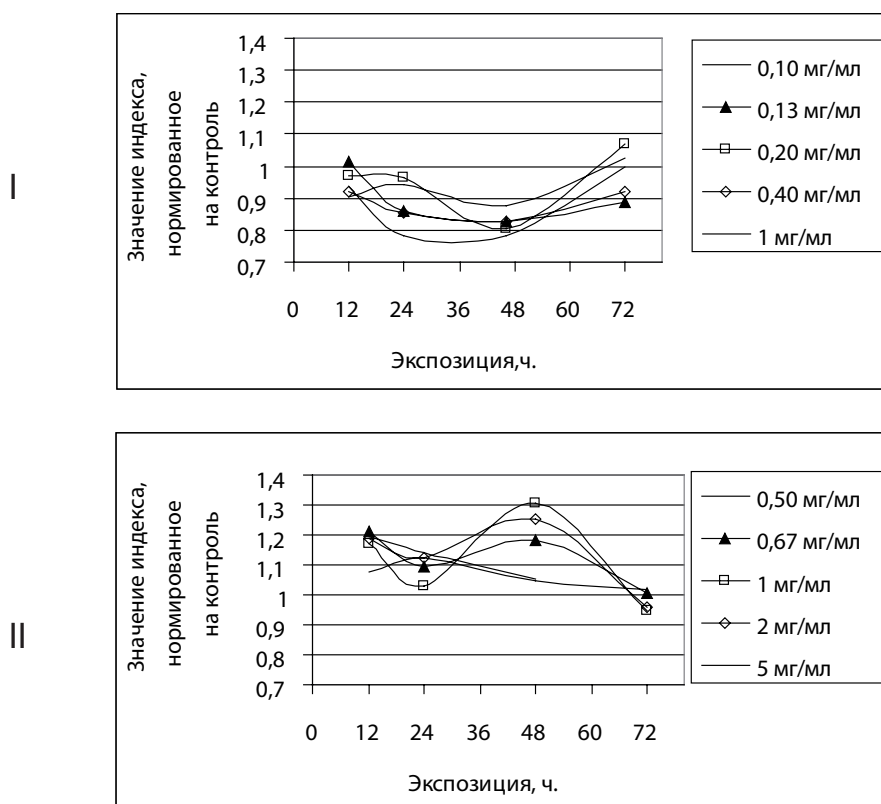


Рис. 2. Изменение активности ЯО под влиянием: I — атропина, II — пилокарпина.

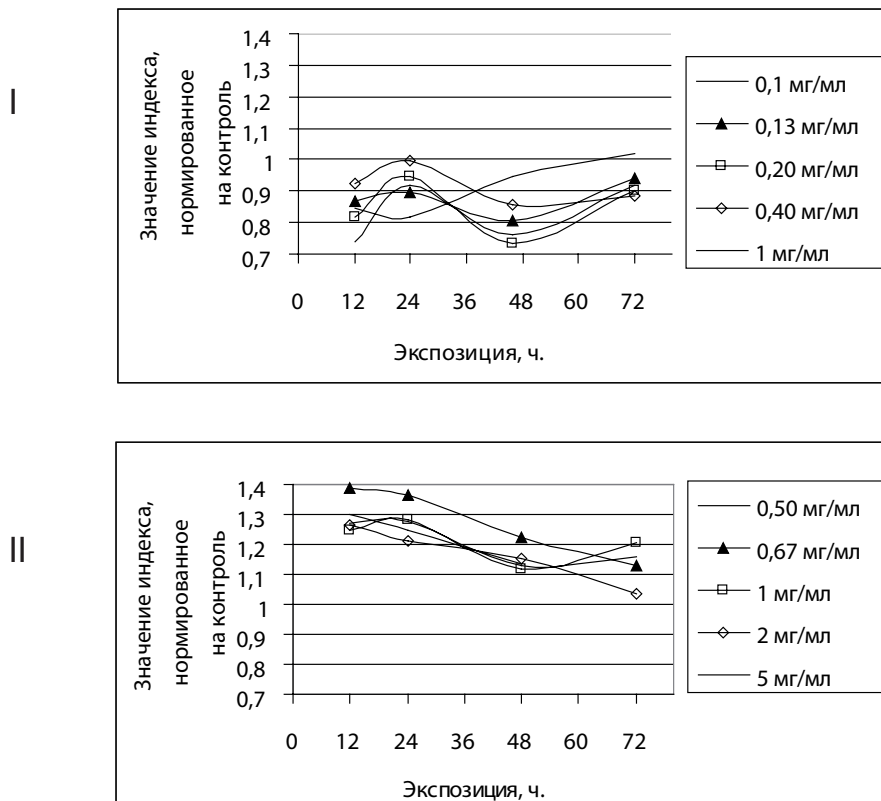


Рис. 3. Изменение активности КБ_в под влиянием: I — атропина, II — пилокарпина.

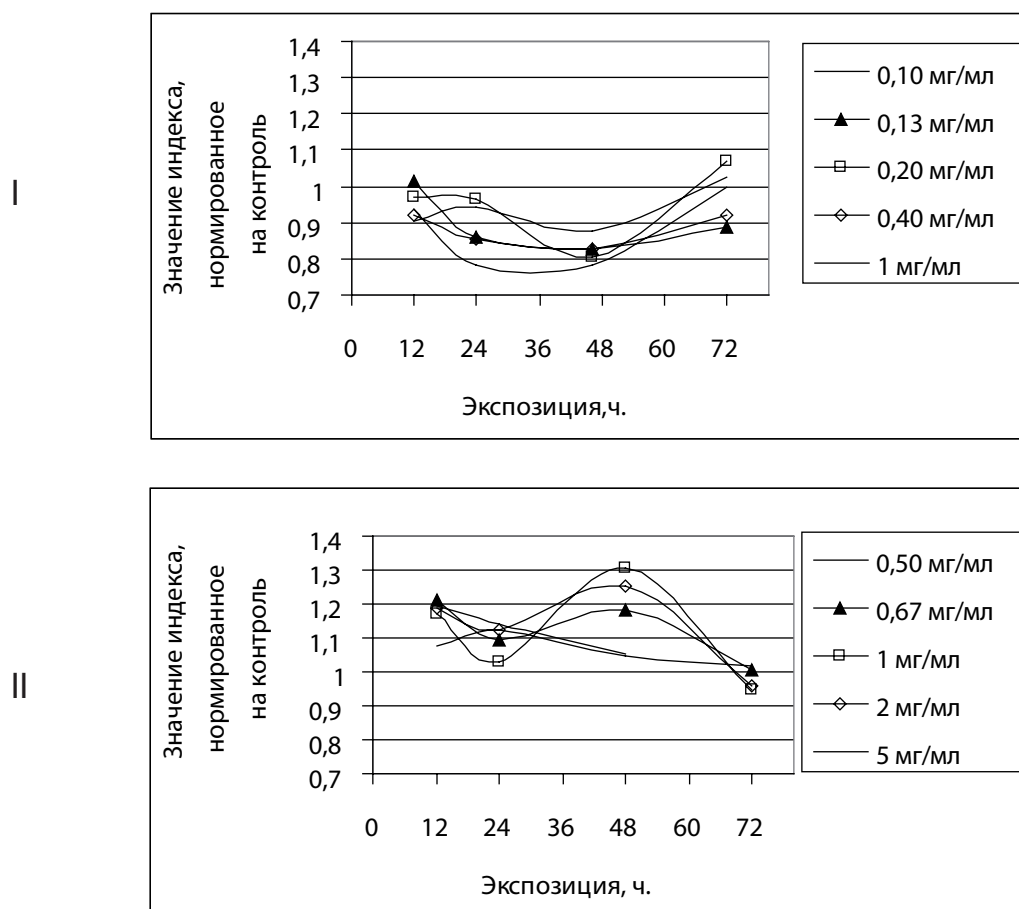


Рис. 4. Изменение активности пуфа плеча В под влиянием I — атропина, II — пилокарпина

зиции были неоднозначны и разбалансированы, в целом отражая тенденцию подавления активности участков. В то время как при действии пилокарпина, активность КБ_{1G} и КБ_{2G} в целом повышалась, восстанавливаясь до состояния в контроле для КБ_{1G} к 48 ч., для КБ_{2G} — к 72 ч. после начала воздействия.

Активность пуфа плеча В к 12 ч. при влиянии разных концентраций атропина повышалась или достоверно не различалась с контролем. К 24 ч. при действии разных концентраций атропина активность пуфа по сравнению с контролем снижалась, восстанавливаясь до состояния в контроле при действии концентраций 0,13 мг/мл, 0,2 мг/мл и 0,4 мг/мл. С 24 до 72 ч. экспозиции активность пуфа, в целом, достоверно не отличалась от контроля (рис. 4, I).

Активность пуфа к 12 ч. при влиянии разных концентраций пилокарпина снижалась или восстанавливалась до контроля, этот характер изменений активности участка сохранялся до 24 ч. экспозиции. С 24 до 72 ч. экспозиции при действии большинства концентраций пилокарпина отмечалась устойчивая тенденция к снижению активности (рис. 4, II).

ОБСУЖДЕНИЕ

Динамика функциональной активности ПХ во многом зависит от внутриклеточных репаративных процессов, связана с функциональной значимостью маркерного участка ПХ и продолжительностью времени восстановления его активности. В зависимости от функциональной роли участков ранее выделены две группы показателей активности ПХ: «общих» и «специфических функций» (Жимулёв, 1994). К показателям «общих функций» относится работа ЯО, участвующего в поддержании клеточного гомеостаза (Зацепина, 2007), и компактность хромосом (Ильинская, 1990), универсальность использования которых определяется возможностью их анализа в большинстве клеток эукариотических организмов. Активность ЯО в момент первичного отклика при действии атропина снижается, пилокарпина — возрастает. При увеличении продолжительности влияния как атропина, так и пилокарпина происходит восстановление активности ЯО до состояния в контроле, что в целом характеризует этот участок как устойчивый к стрессовому воздействию.

Снижение функциональной активности ПХ по индексу компактности под действием атропина было выявлено к 72 ч. воздействия. В момент первичного отклика (к 12 ч.) наблюдался прямо противоположный эффект — резкое повышение активности, свидетельствующее о включении краткосрочных механизмов клеточной гиперкомпенсации, недостаточных для сохранения гомеостаза при продолжительном воздействии. При действии пилокарпина характер изменений активности ПХ был прямо противоположным: в момент первичного отклика происходило ее резкое снижение, повышение же функциональной активности отмечалось к 72 ч. Поэтому изменение компактности ПХ можно считать одним из наиболее чувствительных показателей отклика ядерного хромосомного материала на воздействие.

К участкам, отражающим специфические функции, а именно выработку секрета слюнными железами, относятся КБ, характерные для клеток ряда органов двукрылых насекомых (Кикнадзе, 1972; Жимулёв, 1992). Изменение активности КБ_в при воздействии как атропина, так и пилокарпина и КБ_{1G}, КБ_{2G} при воздействии пилокарпина, в целом, адекватно фармакологическим особенностям действия этих лекарственных препаратов. Так, при влиянии атропина, подавляющего секреторную активность слюнных желёз, отмечается угнетение работы КБ — как участков ПХ, участвующих в синтезе тканеспецифических гликозилированных белков секрета. При влиянии пилокарпина, стимулирующего процесс секреции, активность КБ, напротив, возрастает. Характер изменения активности КБ коррелирует с реакцией ЯО в ответ на воздействие холинотропных препаратов.

Изменение активности пуфа плеча В в диапазоне исследованных концентраций атропина, не вызывающего летальный эффект у личинок *Ch. plumosus*, незначительно нарушалось относительно контрольного состояния в момент первичного отклика, в отличие от действия пилокарпина. Под влиянием пилокарпина, вызывающего летальный эффект у подопытных личинок, при увеличении экспозиции равновесие смещалось в сторону снижения активности. Неадекватная реакция такого секреторного участка ПХ, как пуфа плеча В, может свидетельствовать о токсичности препарата на молекулярно-генетическом уровне.

Литература

1. Валеева Ф. С., 1975. Влияние пилокарпина на пуффинг политенных хромосом слюнных желёз *Chironomus thummi* // Цитология. Т. 17. № 9. С. 1032–1036.
2. Дёмин С. Ю., 1989. Изменчивость степени конденсированности политенных хромосом в клетках разных органов личинок *Chironomus plumosus* из природы: Автореф. канд. дис. Л., 25 с.
3. Жимулёв И. Ф., 1992. Политенные хромосомы: морфология и структура. Новосибирск: Наука, 480 с.
4. Жимулёв И. Ф., 1994. Хромомерная организация политенных хромосом. Новосибирск: Наука, 565 с.
5. Зацепина О. В., 2007. Современные представления о свойствах и функциях ядрышка: ядрышко как мишень стрессовых воздействий на клетки // Цитология. Т. 53. № 9. С. 748–749.
6. Ильинская Н. Б., 1981. Влияние температуры содержания зимующих личинок *Chironomus plumosus* на морфологию политенных хромосом // Цитология. Т. 23. № 6. С. 264–269.
7. Ильинская Н. Б., 1984. Характеристика политенных хромосом различной степени компактности у личинок природной популяции хирономуса // Цитология. Т. 26. № 5. С. 543–551.
8. Ильинская Н. Б., 1989. Морфологическая изменчивость политенных хромосом личинок хирономид в естественных условиях обитания: Автореф. докт. дис. Л., 38 с.
9. Ильинская Н. Б., 1990. Согласованность изменений компактности политенных хромосом и их плеч в клетках слюнных желёз при акклиматизации личинок мотыля к различным температурам // Цитология. Т. 32. № 10. С. 993–1001.
10. Ильинская Н. Б., Иордан М. С., 1975. Методика определения стадии физиологической зрелости личинок хирономид IV возраста по структуре и величине зародышевых дисков // Матер. 1 (IX) заседания рабочей группы по проекту № 18 «Вид и его продуктивность в ареале» Вильнюс. С. 17–22.
11. Ильинская Н. Б., Мартынова М. Г., 1978. Включение 3Н-тимидина в политенные хромосомы слюнных желёз зимующих личинок хирономуса // Цитология. Т. 20. № 6. С. 522–526.
12. Кикнадзе И. И., 1972. Функциональная организация хромосом. Л.: Наука. 202 с.
13. Кикнадзе И. И., Истомина А. Г. Гундерина Л. И. и др. 1996. Кариофонды хирономид криолитозоны Якутии: Триба *Chironomini*. Новосибирск: Наука, 166 с.
14. Коросов А. В., Калинин Н. М., 2003. Количественные методы экологической токсикологии. Петрозаводск: ПетрГУ, КНЦ. 56 с.
15. Лычѳв В. А., 1968. Изучение величины и распределения пуфов *Drosophila melanogaster* в норме и при влиянии инбридинга и облучения: Дис. канд. биол. наук. Обнинск. 202 с.
16. Максимова Ф. Л., 1976. К вопросу о кариотипе *Chironomus plumosus* L. Усть-Ижорской природной популяции Ленинградской области // Цитология. Т. 18. № 10. С. 1164–1169.

17. Нежинская Г. И., Владыкин А. Л., Сапронов Н. С., 2008 а. Эффекты модуляции холинергической системы при воспалении // Экспериментальная и клиническая фармакология. Т. 71. № 2. С. 46–48.
 18. Нежинская Г. И., Владыкин А. Л., Сапронов Н. С. 2008 б. Нейрональные эффекты мускаринового антагониста в профилактике стресса // Экспериментальная и клиническая фармакология. Т. 71. № 3. С. 65–69.
 19. Нежинская Г. И., Лосев Н. А., Сапронов Н. С. 2006. Холинергическая система лимфоцитов // Экспериментальная и клиническая фармакология. Т. 69. № 6. С. 63–67.
 20. Петрова Н. А., Клишко О. К., 2001. К вопросу об индивидуальной изменчивости кариотипа *Chironomus plumosus*: нетипичные пuffs у личинки из природной популяции Читинской обл. // Цитология. Т. 43. № 2. С. 172–177.
 21. Подосиновикова Н. П., Космачев А. Б., Тонкопий В. Д. и др., 2002. *Daphnia magna* Straus как объект при исследовании препаратов холинергического типа действия // Экспериментальная и клиническая фармакология. Т. 65. № 1. С. 73–74.
 22. Полуконова Н. В., Фёдорова И. А., 2006. Эколого-кариологическая оценка последствий действия экологических факторов на хирономид (*Chironomidae*, *Diptera*) // Поволжский экологический журн. № 2/3. С. 164–175.
 23. РД 52.24.635-2002. Методические указания. Проверка наблюдений по оценке уровня токсического загрязнения донных отложений на основе биотестирования. Методы токсикологической оценки загрязнения пресноводных экосистем. М.: Росгидромет. 15 с.
 24. Тимошевский В. А., Назаренко С. А. 2005. Интерфазная цитогенетика в оценке геномных мутаций в соматических клетках // Генетика. Т. 41. № 1. С. 5–16.
 25. Тонкопий В. Д., Космачев А. Б., Загребин А. О., Филько О. А., 1999. Возможность использования *Daphnia magna* в качестве альтернативного тест-объекта для оценки рецепторной избирательности холинотропных веществ // Экспериментальная и клиническая фармакология. Т. 62. № 6. С. 23–25.
 26. Фрумин Г. Т., 1991. Экспресс-метод определения эффективных и смертельных доз (концентраций) // Химико-фармацевтический журнал. № 6. С. 15–18.
 27. Beauvais S. L., Atchison G. J., Stenback J. Z., Crumpton W. G., 1999. Use of cholinesterase activity to monitor exposure of *Chironomus riparius* (*Diptera: Chironomidae*) to a pesticide mixture in hypoxic wetland mesocosms // Hydrobiologia. Vol. 416. P. 163–170.
 28. Beermann W., 1966. Differentiation at the level of the chromosomes // Cell Differentiation and Morphogenesis. Amsterdam: North Holland. P. 24–54.
 29. Beermann W., 1973. Directed changes in the pattern of Balbiani Ring puffing in *Chironomus*: effects of a sugar treatment // Chromosoma. Vol. 41. P. 297–326.
 30. Busch L., Borda E., 2007. Signaling pathways involved in pilocarpine-induced mucin secretion in rat submandibular glands // Life sciences. Vol. 80. P. 842–851.
 31. Clever U., Bultmann H., Darrow J. M., 1969. The immediacy of genomic control in polytene cells // Problems in biology: RNA in development / Eds. E. W. Hanly. Salt Lake City: Univ. of Utah Press. P. 403–423.
 32. Grossbach U., 1977. The salivary gland of *Chironomus* (*Diptera*): a model system for the study of cell differentiation // Results and problems of cell differentiation. Biochemical differentiation in insect glands / Eds. W. Beerman. Berlin; Heidelberg; New York: Springer Verlag. Vol. 8. P. 147–196.
 33. Levin S. L., 1992. Salivatory responses to classical and nontraditional parasympatholytic agents in human subjects: critical comments // Journal of clinical pharmacology. Vol. 32. P. 1013–1022.
 34. Mähr R., Meyer B., Daneholt B., Eppenberger H. M., 1980. Activation of Balbiani Ring genes in *Chironomus tentans* after a pilocarpine — induced depletion of the secretory products from the salivary gland lumen // Develop. Biol. Vol. 80. P. 409–418.
 35. Stockert J. C., 1990. The normalized Balbiani size as a quantitative parameter for transcription activity in polytene chromosomes // Biol. Zbe. Vol. 109. N 2. P. 139–146.
 36. Turberg A., Schröder I., Wegener S., Londershausen M., 1999. Presence of muscarinic acetylcholine receptors in the cattle tick *Boophilus microplus* and in epithelial tissue culture cells of *Chironomus tentans* // Pesticide science. Vol. 48. P. 389–398.
- Chironomus (diptera)* polytene chromosomes functional activity under the influence of cholinotropic preparations**
- I. A. Fyodorova, N. V. Polukonova, K. N. Dvoretzky, S. I. Bogoslovskaya
- ✳ **SUMMARY:** Morphometric analysis of nucleolar organizer (NO), Balbiani rings (BR) — BR₈, BR₁₆, BR₂₆, chromosome I arm puff B, chromosomes compactness activity change under the influence of cholinotropic preparations was carried out. Most sensitive criterion — chromosomes compactness is, most stable under the influence of stress — NO is. Atropine and pilocarpine antagonistic effect on the polytene chromosomes (PC) sites activity pilocarpine manifested

itself in functional activity and restoration period duration change: on cholinoblocker effect activity decreased, while on cholinomimetic effect activity increased.

✿ **KEY WORDS:** functional activity; polytene chromosomes; compactness; nucleolar organizer; Balbiani rings; *Chironomus plumosus*; cholinotropic preparations; atropine; pilocarpine.

✿ Информация об авторах

Федорова Ирина Александровна — аспирант.
Саратовский государственный медицинский университет, кафедры ботаники и фармакогнозии.
410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, 112.
E-mail: irina-genet@rambler.ru

Полуконова Наталья Владимировна — доцент.
Саратовский государственный медицинский университет Росздрава, кафедре ботаники и фармакогнозии.
410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, 112.
E-mail: ecoton@rambler.ru

Дворецкий Константин Николаевич — доцент.
Саратовский государственный медицинский университет Росздрава, кафедре медбиофизики.
410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, 112.
E-mail: dcn@rambler.ru

Богословская Светлана Ивановна — профессор.
Саратовский государственный медицинский университет Росздрава, кафедре фармакологии и клинической фармакологии.
410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, 112.
E-mail: ecoton@rambler.ru

Fyodorova Irina Aleksandrovna — postgraduate.
Saratov State Medical University,
Bolshaya Kazachia st. 112, Saratov, 410012, Russia.
E-mail: irina-genet@rambler.ru

Polukonova Natalia Vladimirovna — associate professor.
Saratov State Medical University,
Bolshaya Kazachia st. 112, Saratov, 410012, Russia.
E-mail: ecoton@rambler.ru

Dvoretzky Konstantin Nikolaevich — associate professor.
Saratov State Medical University,
Bolshaya Kazachia st. 112, Saratov, 410012, Russia.
E-mail: dcn@rambler.ru

Bogoslovskaya Svetlana Ivanovna — professor.
Saratov State Medical University,
Bolshaya Kazachia st. 112, Saratov, 410012, Russia.
E-mail: ecoton@rambler.ru