

It was a screening of the microalgae and microorganisms from soil and water of Kazakhstan on the ability of synthesize arachidonic acid, using the test for sensitivity to acetilsalicylic acid. Selected 4 strain for practical use to the development of biotechnology for arachidonic acid.

УДК 575.224.23:599.323.4

С.Ж. Колумбаева, Д.А. Бегимбетова, А.В. Ловинская, А.М. Калимагамбетов
СОДЕРЖАНИЕ ПЕРВИЧНЫХ И ВТОРИЧНЫХ ПРОДУКТОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ
ЛИПИДОВ В ПЕЧЕНИ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ФИПРОНИЛА И
ФИПРОНИЛ-СУЛЬФОНА

(НИИ проблем экологии, Казахский национальный университет им. аль-Фараби)

Установлено, что фипронил и его метаболит фипронил-сульфон усиливают процессы перекисного окисления липидов у лабораторных грызунов. Содержание малонового диальдегида и гидроперекиси липидов статистически значимо возросло с увеличением продолжительности воздействия ксенобиотиков. Увеличение содержания первичных и вторичных продуктов ПОЛ при воздействии фенилпиразолов свидетельствует об усилении свободнорадикальных процессов.

В настоящее время одним из ведущих механизмов повреждения ядерного генома рассматривается перекисное окисление липидов хроматина. О значительной роли свободных радикалов различной химической природы в повреждении ядерного генома указывает целый ряд работ [1-5]. Т.Е. Полунина, И.В. Маев, В.И. Моулисова и др. отмечают, что вторичные продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ), в том числе и малонового диальдегида (МДА), способны вызывать поперечные сшивки в биополимерах, что нарушает их структуру и функции [2, 3]. При изучении действия на хроматин ионов тяжелых металлов, ионизирующей радиации и хлорорганических соединений была доказана свободнорадикальная природа повреждений хроматина. Что касается эффектов других факторов, в частности пестицидов органической природы, то роль модификации реакций перекисного окисления липидов в механизме их генотоксического действия еще изучена недостаточно [1-4].

Известно, что при действии на организм многих ксенобиотиков наблюдается усиление процессов перекисного окисления липидов. В связи с этим нами было изучено содержание первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов в печени интоксцированных фипронилом и фипронил-сульфоном крыс в остром и подостром опыте.

Материалы и методы

В экспериментах было использовано 50 белых беспородных крыс-самцов в возрасте 6-ти месяцев с массой тела 220-250 г, разделенных на 10 групп: I - интактные животные; II-VII - животные, получавшие однократно, многократно в течение 10 дней и многократно в течение 30 дней фипронил в концентрации 10.0 мг/кг; VIII-XIII - животные, получавшие однократно, многократно в течение 10 дней и многократно в течение 30 дней фипронил-сульфон в концентрации 21.8 мг/кг. В экспериментах по интоксикации лабораторных животных разных возрастных групп было использовано 75 белых беспородных крыс-самцов в возрасте 1, 6 и 12-ти месяцев, разделенных на 15 групп: I-III- интактные животные в возрасте 1, 6 и 12 месяцев; IV-IX - животные в возрасте 1, 6 и 12 месяцев, получавшие пероральным путем фипронил в концентрации 10 мг/кг однократно и многократно (10 дней); X-XV - животные в возрасте 1, 6 и 12 месяцев, получавшие пероральным путем фипронил-сульфон в концентрации 21.8 мг/кг однократно и многократно (10 дней).

Для биохимического определения продуктов перекисного окисления липидов печень после забоя животного взвешивали и помещали в охлажденный 0,05 М трис-НСl буфер (рН=7) с добавленным 0,1 М КСl и 0,9 мМ ЭДТА. Затем орган растирали в гомогенизаторе Поттера с указанным буфером, далее экстракт центрифугировали в течение 10 минут при 1000g с целью получения 10 % гомогената. В гомогенате печеночной ткани определяли содержание первичных (ГПЛ - гидроперекись липидов) и вторичных (МДА - малоновый диальдегид) продуктов ПОЛ.

Содержание МДА определяли по реакции с тиобарбитуратовой кислотой [7]. Регистрировали интенсивность окраски полученного триметинового комплекса на цитофотометре СФ-46 при длине волны 532 нм. Количество МДА рассчитывали, используя коэффициент молярной экстинкции, который равен $1,56 \cdot 10^5 \text{ см}^{-1} \text{ М}^{-1}$ на 1 г влажного веса печени и выражали в мМоль/мг.

Для определения содержания ГПЛ выделяли диеновые структуры гидроперекисей липидов из 10 % гомогената смесью гептана и изопропилового спирта в соотношении 1:1. Оптическую плотность определяли на цитофотометре СФ-46 при длине волны 233 нм. Содержание липидных гидроперекисей

рассчитывали с учетом того, что коэффициент молярной экстинкции равен $2,2 \cdot 10^{-5}$ см/М·л на 1 г влажного веса печени и выражали в нмоль/г [6].

Статистическую обработку результатов наблюдений проводили с помощью *t*-критерия Стьюдента [8].

Результаты и их обсуждение

Результаты биохимического определения продуктов перекисного окисления липидов в печени интоксцированных фипронилом и его метаболитом фипронил-сульфоном крыс в остром и подостром опыте представлены в таблице.

Таблица

Содержание продуктов перекисного окисления липидов в печени интоксцированных фипронилом и фипронил-сульфоном крыс разных возрастных групп

Условия опыта	Возраст животных (мес.)	Содержание ГПЛ (мМоль/мг)	Содержание МДА (мМоль/мг)
контроль	1	1.10 ± 0.32	1.51 ± 0.28
	6	0.91 ± 0.25	1.01 ± 0.14
	12	0.99 ± 0.38	1.24 ± 0.31
фипронил (острый)	1	1.75 ± 0.35	1.91 ± 0.39
	6	1.51 ± 0.27	1.37 ± 0.26
	12	1.95 ± 0.28	2.14 ± 0.32
фипронил (подострый)	1	4.24 ± 0.39***●●	5.97 ± 0.41***●●●
	6	2.05 ± 0.3*	3.12 ± 0.32***●●
	12	5.61 ± 0.54***●●●	5.25 ± 0.39***●●●
фипронил-сульфон (острый)	1	1.87 ± 0.37	1.92 ± 0.38
	6	1.71 ± 0.27	1.83 ± 0.26
	12	2.07 ± 0.29	2.31 ± 0.32**
фипронил-сульфон (подострый)	1	4.35 ± 0.31***●●●	6.11 ± 0.34***●●●
	6	2.57 ± 0.25**●	3.45 ± 0.28***●●
	12	6.32 ± 0.42***●●●	6.08 ± 0.37***●●●
Примечание - * - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$ в сравнении с контрольными значениями. ● - $p < 0.05$; ●● - $p < 0.01$; ●●● - $p < 0.001$ в сравнении с острым опытом			

В печени животных всех возрастных групп в результате острого воздействия фипронила и фипронил-сульфона наблюдалось увеличение содержания ГПЛ и МДА по сравнению с интактными животными соответствующих возрастных групп, однако, эта разница была статистически не достоверной. Многократная интоксикация лабораторных животных изучаемыми ксенобиотиками достоверно увеличила содержание первичных и вторичных продуктов ПОЛ по сравнению с интактными и интоксцированными в остром опыте крысами. При интоксикации животных фипронилом в подостром опыте содержание ГПЛ возросло у одномесечных животных в 2.4 раза ($p < 0.01$) и 4.2 ($p < 0.001$) по сравнению с острым опытом и контролем, а у годовалых – в 2.9 раза ($p < 0.001$) и 5.7 ($p < 0.001$), соответственно. У полугодовалых крыс наблюдалось достоверное увеличение содержания ГПЛ в 2.3 раза ($p < 0.05$) только в сравнении с интактными животными.

У одномесечных, полугодовалых и годовалых животных, многократно интоксцированных фипронилом, содержание МДА возросло по сравнению с аналогичными возрастными группами интактных животных в 4.0 ($p < 0.001$); 3.1 ($p < 0.001$) и 4.2 раза ($p < 0.001$), соответственно. Сравнительный анализ содержания МДА между группами животных, однократно и многократно интоксцированных фипронилом, также выявил их достоверное различие. При подостром воздействии содержание МДА у животных всех возрастных групп соответственно увеличилось в 3.1 ($p < 0.001$); 2.3 ($p < 0.01$) и 2.5 раза ($p < 0.001$).

В результате острого воздействия фипронил-сульфона достоверное увеличение наблюдалось только по содержанию МДА у 12-месячных животных ($p < 0.01$) по сравнению с интактными животными аналогичной возрастной группы. При длительной интоксикации фипронил-сульфона у животных всех возрастных групп статистически значимо увеличилось содержание ГПЛ и МДА. Так, у 1-, 6- и 12-месячных животных содержание ГПЛ по сравнению с интактными животными аналогичных возрастных групп возросло в 4.0 ($p < 0.001$), 2.8 ($p < 0.01$), 6.4 раза ($p < 0.001$), соответственно, а МДА – в 4.0, 3.1 и 5.0 раза ($p < 0.001$), соответственно. Наблюдалось достоверное увеличение содержания продуктов ПОЛ в печени крыс, длительно интоксцированных метаболитом фипронила, по сравнению

с животными, интоксцированных в остром опыте. Содержание ГПЛ у молодых, половозрелых и стареющих крыс возросло в 2.3 ($p<0.001$), 1.4 ($p<0.05$) и 3.1 раза ($p<0.001$), соответственно, а увеличение содержания МДА составило 3.2 ($p<0.001$), 1.9 ($p<0.01$) и 2.6 раза ($p<0.001$), соответственно.

Сравнительный оценка данных по содержанию продуктов ПОЛ у животных, длительно интоксцированных фипронилом и фипронил-сульфоном, показала, что наиболее интенсивно процессы ПОЛ протекают у одномесячных и годовалых крыс. При интоксикации фипронилом содержание ГПЛ у одномесячных и годовалых крыс статистически значимо не различалось. У этих животных (одномесячные, $p<0.01$; годовалые, $p<0.01$) содержание гидроперекиси липидов было достоверно выше, чем у животных полугодовалого возраста. Аналогичная картина отмечена и по содержанию МДА. При длительной интоксикации фипронил-сульфоном также наиболее высокое содержание ГПЛ и МДА отмечено у одномесячных и годовалых животных, причем, превышение этих показателей по сравнению с полугодовальными животными было статистически достоверным.

Проведенные биохимические исследования показали, что фенилпиразолы усиливают процессы ПОЛ у лабораторных грызунов. Содержание ГПЛ и МДА статистически значимо возрастало с увеличением продолжительности воздействия ксенобиотиков. У одномесячных и годовалых животных эти показатели были выше по сравнению с полугодовальными. Увеличение содержания ГПЛ и МДА при токсическом воздействии фенилпиразолов свидетельствует об усилении свободнорадикальных процессов.

Избыточное поступление в окружающую среду и последующая аккумуляция живыми организмами загрязнителей химической природы, в числе которых широко используемые пестициды, представляют несомненную опасность для биоты. Накопление ядохимикатов в объектах окружающей среды может привести к нарушению гомеостаза экосистем.

Нами ранее уже отмечалось, что на территории Казахстана и сопредельных государств в связи с пандемией саранчовых начиная с 2000 года повсеместно используются пестициды нового поколения из класса фенилпиразолов, типичным представителем которого является фипронил [9]. Мы столкнулись с достаточно противоречивыми сведениями в литературе относительно негативного воздействия инсектицидов на основе фипронила на млекопитающих [10, 11].

Ранее нами было установлено, что фипронил и его метаболит фипронил-сульфон вызывали у интоксцированных животных разных возрастных групп патологические изменения в печени, степень тяжести которых зависела от продолжительности воздействия и возраста животных [12-15]. Гистологическое исследование печени экспериментальных животных разных возрастных групп выявило развитие жировой дистрофии, воспалительных процессов и гибели части гепатоцитов. Кроме того, при длительном воздействии данных ксенобиотиков может развиваться цирроз печени и гибель животных. Накопление жира в гепатоцитах вполне может быть результатом образования токсичных метаболитов при биотрансформации пестицида. Кроме того, нами было показано, что данные фенилпиразолы при остром и подостром воздействии на крыс проявили выраженный генотоксический эффект, степень которого усиливалась с увеличением продолжительности воздействия и возраста животных. Генотоксичность изучаемых ксенобиотиков проявилась в достоверном увеличении частоты структурных и геномных мутаций [12, 13].

Одним из механизмов генотоксического действия пестицидов на основе фипронила является перекисное окисление липидов, которое сопровождается увеличением содержания МДА, что свидетельствует о непрерывности свободнорадикальных процессов. С большой долей вероятности токсичные фенилпиразолы нарушают работу клеточной системы репарации, что влечет за собой переход первичных повреждений в молекуле ДНК в стойкие мутации.

Проведенные нами биохимические исследования первичных и вторичных продуктов ПОЛ в печени крыс разного возраста, подвергнутых острому и подострому воздействию фенилпиразолов, свидетельствуют об усилении ПОЛ. Содержание ГПЛ и МДА увеличилось у животных всех возрастных групп. При длительном воздействии фипронила на лабораторных животных наблюдалось достоверное увеличение содержания исследуемых продуктов ПОЛ в печени животных всех возрастов. При сравнительной оценке изучаемых биохимических показателей у длительно интоксцированных фипронилом и его метаболитом фипронил-сульфоном животных, было выявлено их достоверное различие.

Таким образом, результаты ранее проведенного цитогенетического и настоящего биохимического исследований крыс, интоксцированных фипронилом и его метаболитом фипронил-сульфоном, позволяют высказать предположение, что в основе генотоксического действия изучаемых ксенобиотиков лежат свободнорадикальные процессы, в частности, перекисное окисление липидов.

Работа выполнена в рамках проекта ПФИ «Исследование уровня накопления в объектах окружающей среды пестицидов нового поколения фенилпиразолов и их влияния на организмы с целью экологического нормирования». ГР № 0109PK00153.

- 1 Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс: Биохимический и патофизиологический аспекты. М.: Наука. Интерпериодика, 2001. - 343 с.
- 2 Полунина Т.Е., Маев И.В. Лекарственный гепатит // Гастроэнтерология - 2008. - № 1. – С. 54-62.
- 3 Моулисова, В.И. Силибин уменьшает перекисное окисление липидов мембраны гепатоцитов крысы, индуцированное циклоспорином А // Биохимия. - 2006. - Т. 71 (9). - С. 1371-1376.
- 4 Ляхович В.В. и др. Активная защита при окислительном стрессе. Антиоксидант-респонсивный элемент // Биохимия. - 2006. - Т. 71 (9). - С. 1183-1197.
- 5 Кемелева Е.А. и др. Окисление гуанина в ДНК печени и легких преждевременно стареющих крыс линии OXYS // Биохимия. - 2006. - Т. 71 (6). - С. 760-767.
- 6 Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лабораторное дело. - 1983. - № 3. - С. 23-25.
- 7 Стальная И.Д., Гаришвили Г.Г. Определение МДА с помощью тиобарбитуровой кислоты / Под ред. В.Н. Ореховича Современные методы в биохимии. – Москва, 1977. - С. 66-68.
- 8 Лакин Г.Ф. Биометрия / Учеб. пособие для биол. спец. вузов - 4-е изд., перераб. и доп. - М.; Высш. шк. - 1990. - 352 с.
- 9 Лачининский А.В. Новые препараты для борьбы с вредными саранчовыми // Защита и карантин растений. - 2000. - № 4. - С. 9-11.
- 10 Insecticide factsheet. Fipronil // Journal of Pesticide Reform. - 2005. - Vol. 25, № 1. - P. 10-15.
- 11 Tingle C.C. Fipronil: environmental fate, ecotoxicology and human health concerns // Rev Environ Contam Toxicol. - 2003. - № 176. - P. 1-66.
- 12 Бегимбетова Д.А., Колумбаева С.Ж., Калимагамбетов А.М., Шалахметова Т.М., Ерубаетова Г.К. Генотоксическое действие фипронила на крыс разного возраста // Вестник КазНУ. Серия биологическая. - 2009. - № 1 (40). - С. 78-83.
- 13 Колумбаева С.Ж., Бегимбетова Д.А., Калимагамбетов А.М., Ерубаетова Г.К., Шалахметова Т.М. Генотоксическое действие метаболитов фипронила на крыс разного возраста. Часть 1. Эффект фипронил-сульфона на крыс при остром воздействии // Вестник КазНУ. Серия биологическая. - 2008. - № 2 (37). – С. 61-64.
- 14 Колумбаева С.Ж. Генотоксическое действие метаболитов фипронила на крыс разного возраста. Часть 2. Цитогенетический эффект фипронил-сульфона на крыс при подостром воздействии // Вестник КазНУ. Серия биологическая. - 2008. - №3 (38). - С. 54-57.
- 15 Бегимбетова Д.А., Шалахметова Т.М., Колумбаева С.Ж., Калимагамбетов А.М., Омирбекова Н.Ж. Токсические и мутагенные эффекты инсектицида Адониса и протекторные свойства препарата ЛЮР-2 из щавеля Маршалловского (Rumex Marshallianus RCHB) // Материалы Междунар. конф. Гумбольдт-Коллег I Кыргызстана. - Бишкек: Илим, 2006. - С. 201-204.

**А.С. Нурмаханова, С.Ж. Атабаева, С.С. Айдосова, А. Махашова, Г. Қалдыбекқызы,
С.С. Кенжебаева, С.Ш. Асрандина, Ж.Ж. Чунетова**
ТҰЗДАНУ ЖӘНЕ МЫС ИОНДАРЫНЫҢ ӘРТҮРЛІ
БИДАЙ СОРТТАРЫНЫҢ ӨСУІНЕ ӘСЕРІ
(Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті)

Бұл мақалада ауылшаруашылық бидай дақылдың әртүрлі сорттарының өсуіне тұз, мыс иондарының жеке және бірлескен әсерлері байқалады. Зерттеу әдістері бойынша бидай дақылдың 5 сортына (Казахстанская 3, Шағала, Мелтурн, Кайыр, Казахстанская раная) сараптамалық талдау жасалды. Осы аталған сорттарға зертханалық жағдайда тұз және мыс иондарының, және осы екеуінің бірлескен әсерінде әртүрлі концентрацияда зерттеулер жүргізілді. Зерттеу барысында тұз және мыс иондарының жеке және бірлескен концентрациясында өсірілген әртүрлі бидай сорттарына скрининг жүргізілді. Сонымен қатар өсімдіктің сабағы мен тамырының ұзындықтары және биомассасын анықтау үшін құрғақ және кептірілген күйдегі салмақтары өлшенді. Алынған мәліметтер бойынша әртүрлі бидай сорттарының жерүсті мүшесі мен тамырының өсуінің тежелу деңгейі байқалды. Яғни әртүрлі бидай сорттарын тұз, мыс иондарының жеке және бірлескен әсерінде өсімдіктердің өсу деңгейі арқылы төзімділігі мен төзімсіздігі анықталды.

Қазіргі кезде қоршаған ортаның ластану салдарынан ауылшаруашылық дақылдарының өнім беру қабілеті төмендеуде. Табиғи жағдайда топырақ құрамының тұздануы, ондағы өсірілетін ауыл шаруашылық дақылдарының құрамында ауыр металдардың мөлшерден тыс жинақталуы, қазіргі таңдағы өзекті мәселенің бірі болып отыр. Азық-түлік өнімдерінің құрамында ауыр металдардың мөлшерден тыс болуының себептерінен адам ағзасы әртүрлі ауруларға шалдығады. Ауыр металдармен ластанған аймақтарда тіршілік ететін адамзаттың бірінші орында-асқазаны, екінші орында – тыныс алу мүшелері, және үшінші орында - қан айналу жүйесі зақымданады [1]. Сондай-ақ азықтық қор