



ӘЛ-ФАРАБИ атындағы  
ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТИ

КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
УНИВЕРСИТЕТ имени АЛЬ-ФАРАБИ

AL-FARABI KAZAKH  
NATIONAL UNIVERSITY

**ХАБАРШЫ**  
БИОЛОГИЯ СЕРИЯСЫ

**ВЕСТНИК**  
СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

**BULLETIN**  
BIOLOGY SERIES

4(56) 2012

\*\*\*

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

УДК 575.224.23:599.323.4

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

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

Установлено, что фипронил и его метаболит фипронил-сульфон усиливают процессы перекисного окисления липидов в печени лабораторных грызунов. Содержание малонового диальдегида и гидроперекиси липидов в печени крыс возрастило с увеличением продолжительности воздействия ксенобиотиков. Увеличение содержания первичных и вторичных продуктов ПОЛ при воздействии фенилтиразолов 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 указывают работы [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), вызывать поперечные сшивки в биополимерах, что нарушает их структуру и функции. В изучении действия на хроматин ионов тяжелых металлов, ионизирующей радиации и хлороганических соединений была доказана свободнорадикальная природа повреждений. Что касается эффектов других факторов, в частности пестицидов органической природы, механизмы модификации реакций перекисного окисления липидов в механизме их генотоксичности 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 интоксикированных крыс фипронил-сульфоном крыс в остром и подостром опыте.

**Материалы и методы**

В экспериментах было использовано 50 белых беспородных крыс-самцов в возрасте 1, 6 и 12 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 15 беспородных крыс-самцов в возрасте 1, 6 и 12-ти месяцев, разделенных на 15 групп: I-III - 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-XIV - 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 измельченных животных взвешивали и помещали в охлажденный 0,05 М трис-HCl буфер (pH=7) с добавлением 0,1% М KCl и 0,9 мМ ЭДТА. Затем орган растирали в гомогенизаторе Поттера с указанными выше условиями, экстракт центрифугировали в течение 10 минут при 1000g с целью получения 10 % гомогената 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 волн 532 нм. Количество МДА рассчитывали, используя коэффициент молярной экстинкции, который равен  $1,56 \cdot 10^5 \text{ см}^{-1}\text{M}^{-1}$  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. Определяли ГПЛ на цитофотометре СФ-46 при длине волн 233 нм. Содержание липидов определяли

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

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

### Результаты и их обсуждение

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

Таблица

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

Группы 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***•••

\* - \* -  $p < 0.05$ ; \*\* -  $p < 0.01$ ; \*\*\* -  $p < 0.001$  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 сульфона наблюдалось увеличение содержания ГПЛ и МДА по сравнению с интактными соответствующими возрастными группами, однако, эта разница была статистически не значимой. Многократная интоксикация лабораторных животных изучаемыми ксенобиотиками увеличила содержание первичных и вторичных продуктов ПОЛ по сравнению с интактными и интоксикованными в остром опыте крысами. При интоксикации животных в подостром опыте содержание ГПЛ возросло у однолетних животных в 2.4 раза (4.2 ( $p < 0.001$ ) по сравнению с острым опытом и контролем, а у годовалых – в 2.9 раза (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 однолетних, полугодовалых и годовалых животных, многократно интоксикованных фипронилом, содержание МДА возросло по сравнению с аналогичными возрастными группами животных в 4.0 ( $p < 0.001$ ); 3.1 ( $p < 0.001$ ) и 4.2 раза ( $p < 0.001$ ), соответственно. Статистический анализ содержания МДА между группами животных, однократно и многократно интоксикованных 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 и 2.5 раза ( $p < 0.001$ ).

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

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

Сравнительный оценка данных по содержанию продуктов ПОЛ у животных, интоксикованных фипронилом и фипронил-сульфоном, показала, что наиболее быстрые процессы ПОЛ протекают у одномесячных и годовалых крыс. При интоксикации фипронилом содержание ГПЛ у одномесячных и годовалых крыс статистически значимо не различалось, животных (одномесячные,  $p<0.01$ ; годовалые,  $p<0.01$ ) содержание гидроперекиси было достоверно выше, чем у животных полугодовалого возраста. Аналогичная картина отмечалась и при интоксикации фипронил-сульфоном, где содержание ГПЛ и МДА отмечено у одномесячных и годовалых животных, причем, приведенные выше показатели по сравнению с полугодовалыми животными было статистически достоверными.

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

Избыточное поступление в окружающую среду и последующая аккумуляция в организмах загрязнителей химической природы, в числе которых широко используемые фенотоксики, 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 эпидемией саранчевых начиная с 2000 года повсеместно используются пестициды из класса фенилпиразолов, типичным представителем которого является фипронил. Мы столкнулись с достаточно противоречивыми сведениями в литературе относительно механизма действия инсектицидов на основе фипронила на млекопитающих [10, 11].

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

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

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

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

Работа выполнена в рамках проекта ПФИ «Исследование уровня накопления в объектах среды пестицидов нового поколения фенилпиразолов и их влияния на организмы с целью его нормирования». ГР № 0109РК00153.

- Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс: Биохимический и эпигенетический аспекты. М.: Наука. Интерпериодика, 2001. - 343 с.
- Полунина Т.Е., Маев И.В. Лекарственный гепатит // Гастроэнтерология - 2008. - № 1. - С. 54-62.
- Моулисова, В.И. Силибин уменьшает перекисное окисление липидов мембранных гепатоцитов крысы, индуцированное циклоспорином A // Биохимия. - 2006. - Т. 71 (9). - С. 1371-1376.
- Лакович В.В. и др. Активная защита при окислительном стрессе. Антиоксидант-респонсивный Биохимия. - 2006. - Т. 71 (9). - С. 1183-1197.
- Кемелева Е.А. и др. Окисление гуанина в ДНК печени и легких преждевременно стареющих крыс линии Ахильса // Биохимия. - 2006. - Т. 71 (6). - С. 760-767.
- Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей в плазме крови // Лабораторное дело. - 1983. - № 3. - С. 23-25.
- Стальная И.Д., Гаришвили Г.Г. Определение МДА с помощью тиобарбитуровой кислоты / Под ред. А.С. Современные методы в биохимии. - Москва, 1977. - С. 66-68.
- Лакин Г.Ф. Биометрия / Учеб. пособие для биол. спец. вузов - 4-е изд., перераб. и доп. - М.; Высш. шк. - 2000.
- Лачининский А.В. Новые препараты для борьбы с вредными саранчовыми // Защита и карантин растений. - 2000. - № 4. - С. 9-11.
- factsheet. Fipronile // Journal of Pesticide Reform. - 2005. - Vol. 25, № 1. - P. 10-15.
- Tingle C.C. Fipronil: environmental fate, ecotoxicology and human health concerns// Rev Environ Contam 2003. - № 176. - P. 1-66.
- Бегимбетова Д.А., Колумбаева С.Ж., Калимагамбетов А.М., Шалахметова Т.М., Ерубаева Г.К. Биотехническое действие фипронила на крыс разного возраста // Вестник КазНУ. Серия биологическая. - 2008. - № 1 (40). - С. 78-83.
- Колумбаева С.Ж., Бегимбетова Д.А., Калимагамбетов А.М., Ерубаева Г.К., Шалахметова Т.М. Биотехническое действие метаболитов фипронила на крыс разного возраста. Часть 1. Эффект фипронила на крыс при остром воздействии // Вестник КазНУ. Серия биологическая. - 2008. - № 2 (37). - С. 61-65.
- Колумбаева С.Ж. Генотоксическое действие метаболитов фипронила на крыс разного возраста. Часть 2. Биотехнический эффект фипронил-сульфона на крыс при подостром воздействии // Вестник КазНУ. Серия биологическая. - 2008. - №3 (38). - С. 54-57.
- Бегимбетова Д.А., Шалахметова Т.М., Колумбаева С.Ж., Калимагамбетов А.М., Омирбекова Н.Ж. Биотехнические и мутагенные эффекты инсектицида Адониса и протекторные свойства препарата ЛЮР-2 из щавеля Маршаллиана (Rumex Marshallianus RCHB) // Материалы Междунар. конф. Гумбольдт-Коллег I Кыргызстана. - Бишкек, 2006. - С. 201-204.

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

Мысалада ауылшаруашылық бидай дақыларының әртүрлі сорттарының өсүіне тұз, мыс иондарының жеке және жерлері байқалады. Зерттеу едістері бойынша бидай дақыларының 5 сорттына (Казахстанская 3, Шагала, Мелтурн, Каспийская ранняя) сараптамалық талдау жасалды. Осы атаплан сорттарға зертханалық жағдайда тұз және мыс иондарының жеке және бірлескен концентрациясында зерттеулер жүргізілді. Зерттеу барысында мыс иондарының жеке және бірлескен концентрациясында осірілген әртүрлі бидай сорттарына скрининг жүргізілді. Сонымен қатар осімдіктің сабагы мен тамырының ұзындықтары және биомассасын анықтау үшін құргақ шартынан күйдегі салмақтары олшенеді. Алынған мәліметтер бойынша әртүрлі бидай сорттарының жерусті мүшесінің өсүінің тәжелу деңгейі байқалды. Яғни әртүрлі бидай сорттарын тұз, мыс иондарының жеке және бірлескен концентрацияда осу деңгейі арқылы тозімділігі мен тозімсіздігі анықталды.

Казіргі кезде коршаган ортандық ластану салдарынан ауылшаруашылық дақылдарының өнімділікі төмендеуде. Табиғи жағдайда топырақ құрамының тұздануы, ондағы өсірілетін ауыл шаруашылық дақылдарының құрамында ауыр металдардың мөлшерден тыс жинақталуы, қазіргі езекті мәселенің бірі болып отыр. Азық-түлік өнімдерінің құрамында ауыр металлдардың мөлшерден тыс болуының себептерінен адам ағзасы әртүрлі ауруларға шалдығады. Ауыр металдармен аймактарда тіршілік стетін адамзаттың бірінші орында асказаны, екінші орында – тыныс орнада, және үшінші орында – кан айналу жүйесі закымданады [1]. Сондай-ақ азықтық қор