

© А. В. Ловинская

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан

В результате исследований установлена генотоксичность фипронила, проявившаяся в одонитевых разрывах ДНК в клетках легких, селезенки и печени интоксцированных животных. Фипронил оказывал отрицательное воздействие на половые клетки мышей, вызывая нарушения структуры синаптонемных комплексов сперматоцитов.

✿ **Ключевые слова:** фипронил; генотоксичность; метод ДНК-комет; синаптонемный комплекс.

ГЕНОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ФИПРОНИЛА НА СОМАТИЧЕСКИЕ И ПОЛОВЫЕ КЛЕТКИ МЫШЕЙ

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что многие пестициды действуют подобно мутагенам, обладая цитотоксическим и генотоксическим эффектом (Singh et al., 2011). В Казахстане широко используют инсектициды адонис и регент, действующим веществом которых является фипронил (Список пестицидов, 2012). Известно, что фипронил высокотоксичен для беспозвоночных и малотоксичен для млекопитающих. Однако в природных популяциях, которые обитают вокруг сельскохозяйственных полей, обработанных инсектицидом, наблюдается снижение численности позвоночных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись клетки внутренних органов интактных и интоксцированных фипронилом лабораторных мышей-самцов линии *BALB/cYwal*. Водный раствор фипронила вводили подопытным животным внутрибрюшинно однократно в дозах 31,7 и 19,0 мг/кг. Животные были разделены на 5 групп по 5 мышей в каждой: I группа — интактные животные. II—III группы — животные, забиваемые через 6 часов после введения ксенобиотика; IV—V группы — животные, забиваемые через 24 часа после введения ксенобиотика. У животных забирали печень, селезенку, легкие для исследования разрывов ДНК с помощью метода ДНК-комет (Дурнев и др., 2006) и семенники для получения тотальных препаратов синаптонемных комплексов и их последующего иммуноцитохимического анализа (Kolomiets et al., 2010; Anderson et al., 1999). Учитывали содержание ДНК в хвосте комет (в %) с помощью программы Comet score. Показателем генотоксического действия явился индекс повреждения (ИП), превышающий 2,0, который определяется как соотношение «% ДНК в хвосте» в опытной группе к «% ДНК в хвосте» в контрольной группе. Во всех случаях определяли средние значения и ошибки среднего. Достоверность различий средних оценивали, используя непараметрический U-тест Манна—Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследований установлено, что фипронил в используемых дозах индуцировал в клетках всех изучаемых органов лабораторных мышей одонитевые разрывы ДНК с частотой, достоверно превышающей контрольный уровень ($P < 0,001$) (табл. 1).

С увеличением дозы ксенобиотика возрастала частота разрывов ДНК в клетках всех изучаемых органов. В клетках легких и селезенки увеличение количества разрывов ДНК происходило в первые 6 часов после введения препарата, а через 24 часа после введения их уровень снижался. ИП через 6 и 24 часа после введения мышам фипронила в дозе 31,7 мг/кг составил в клетках легких соответственно 3,3 и 2,1, а в дозе 19,0 мг/кг — 1,8 и 1,5. ИП через 6 и 24 часа после введения мышам фипронила в дозе 31,7 мг/кг составил в клетках селезенки соответственно 2,2 и 1,9. ИП при дозе 19,0 мг/кг через 6 и 24 часа после введения составил в селезенке 1,9 и 1,3. Необходимо отметить, что в клетках печени количество повреждений ДНК через 24 часа после введения фипронила во всех использованных дозах превыша-

Поступила в редакцию 19.04.2015
Принята к публикации 07.12.2015

Таблица 1

Содержание ДНК в «хвосте кометы» в клетках внутренних органов мышей, однократно интоксцированных фипронилом

Группы животных	Вариант, Доза, мг/кг	ДНК в хвосте кометы в клетках внутренних органов, ($M \pm m$), %		
		Печень	Легкие	Селезенка
I	Контроль	$1,35 \pm 0,04$	$1,30 \pm 0,05$	$1,38 \pm 0,04$
Через 6 часов после введения фипронила				
II	19,0	$2,74 \pm 0,07^*$	$3,03 \pm 0,14^*$	$3,34 \pm 0,14^*$
III	31,7	$3,70 \pm 0,09^*$	$5,45 \pm 0,11^*$	$3,44 \pm 0,15^*$
Через 24 часа после введения фипронила				
IV	19,0	$3,76 \pm 0,10^*$	$2,53 \pm 0,09^*$	$2,07 \pm 0,09^*$
V	31,7	$5,64 \pm 0,13^*$	$3,56 \pm 0,13^*$	$2,94 \pm 0,07^*$

* — $p < 0,001$ в сравнении с негативным контролем

ло не только контрольный уровень, но и количество повреждений ДНК, отмеченное через 6 часов после введения. Индекс повреждения через 6 и 24 часа после введения мышам фипронила в дозе 31,7 мг/кг составил в печени соответственно 2,2 и 3,3. ИП при дозе 19,0 мг/кг через 6 и 24 часа после введения составил в печени соответственно 1,6 и 2,2.

Нами также были изучены синаптонемные комплексы (СК) в стадиях пахитены и диплотены мейоза. Количество ядер с нарушениями у животных IV и V групп достоверно превышало контрольный уровень (13,4 % ядер с нарушениями от общего количества ядер) в 4,3 и 4,6 раза соответственно. Были выявлены следующие нарушения: фрагментация, ассоциации аутосом с половым бивалентом, преждевременный десинапсис половых хромосом, нарушение формирования полового тельца, кольцевые СК, атипичная структура СК.

Таким образом, в результате исследований установлена способность фипронила индуцировать одонитные разрывы ДНК в клетках легких, селезенки и печени интоксцированных животных. Кроме того, фипронил оказывал отрицательное действие на половые клетки мышей, вызывая нарушения структуры СК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дурнев А. Д., Жанатаев А. К., Анисина Е. А. и др. (2006) Применение метода щелочного гель-электрофореза изолированных клеток для оценки генотоксических свойств природных и синтетических соединений. Методические рекомендации. Москва: 28 с.
2. Список пестицидов, разрешенных к применению на территории Республики Казахстан на 2013–2022 годы. (2012) Астана: 146 с.
3. Anderson L. K., Reeves A., Webb M. L., Ashley T. (1999) Distribution of Crossing Over on Mouse Synaptonemal Complexes Using Immunofluorescent Localization of MLH1 Protein. *Genetics*. V. 159: P. 1569–1579.

4. Kolomiets O. L., Matveevsky S. N., Bakloushinskaya I. Yu. (2010) Sexual dimorphism in prophase I of meiosis in mole vole (*Ellobius talpinus* Pallas) with isomorphic (XX) chromosomes in males and females. *Comparative Cytogenetics*. V. 4 (1): P. 55–66.
5. Singh S., Kumar V., Thakur S. et al. (2011) DNA damage and cholinesterase activity in occupational workers exposed to pesticides. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. V. 31 (2): P. 278–285.

GENOTOXIC EFFECT OF FIPRONIL ON SOMATIC AND GERM CELLS OF MICE

Lovinskaya A. V.

✿ **SUMMARY:** *Background.* It is known that many pesticides can act as mutagens by causing cytotoxic and negative genetic effects. Fipronil is insecticide, which widely used marketed under the trade names Adonis and Regent for locust control in Kazakhstan. *Materials and methods.* It studied mouse cells of internal organs (liver, lungs, spleen, testes) using the Comet assay and synaptonemal complex analysis in spermatocytes using immunocytochemistry methods. *Results.* It has been found that fipronil damages DNA in cells of the lung, spleen and liver intoxicated animals. Fipronil has a negative effect on the germ cells of mice, causing damage to synaptonemal complex structure of spermatocytes. *Conclusion.* The studies have shown that fipronil has genotoxic effect.

✿ **KEYWORDS:** fipronil; genotoxicity; Comet assay; synaptonemal complex.

REFERENCES (TRANSLITERATED)

1. Durnev A. D., Zhanataev A. K., Anisina E. A. et al (2006) Primenenie metoda shchelochnogo gel'-elektroforeza izolirovannykh kletok dlya otsenki genotoksicheskikh svoystv prirodnykh i sinteticheskikh soedineniy [Application of the alkaline gel electrophoresis of isolated cells to assess genotoxic properties of natural and synthetic compounds]. Guidelines. Moskva: 28 p.
2. Spisok pestitsidov, razreshennykh k primeneniyu na territorii Respubliki Kazakhstan na 2013–2022 gody [The list of pesticides approved for use on the territory of the

- Republic of Kazakhstan for 2013–2022] (2012) Astana: 146 p.
3. Anderson L. K., Reeves A., Webb M. L., Ashley T. (1999) Distribution of Crossing Over on Mouse Synaptonemal Complexes Using Immunofluorescent Localization of MLH1 Protein. *Genetics*. V. 159: P. 1569–1579.
 4. Kolomiets O. L., Matveevsky S. N., Bakloushinskaya I. Yu. (2010) Sexual dimorphism in prophase I of meiosis in mole vole (*Ellobius talpinus* Pallas) with isomorphic (XX) chromosomes in males and females. *Comparative Cytogenetics*. V. 4 (1): P. 55–66.
 5. Singh S., Kumar V., Thakur S. et al. (2011) DNA damage and cholinesterase activity in occupational workers exposed to pesticides. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. V. 31 (2): P. 278–285.

✪ Информация об авторе

Ловинская Анна Владимировна — студент Phd-докторантуры, факультет биологии и биотехнологии. Казахский национальный университет имени аль-Фараби. 050040, Алматы, пр. Аль-Фараби, д. 71, Казахстан. E-mail: ankalav@mail.ru.

Lovinskaya Anna Vladimirovna — Phd-student, Faculty of Biology and Biotechnology. Al-Farabi Kazakh National University. 050040, Almaty, al-Farabi av., 71 a, Kazakhstan. E-mail: ankalav@mail.ru.