

Генотоксическое действие не утилизируемых и запрещенных к использованию пестицидов на организм крупного рогатого скота, содержащегося на территории Южного Казахстана

А. А. КОРНИЛОВА¹, Р. Ж. ЖАПБАСОВ², А. М. ЖОМАРТОВ², А. К. СИБАТАЕВ^{1, 3},
Д. А. БЕГИМБЕТОВА⁴, Б. О. БЕКМАНОВ²

¹Евразийский национальный университет им. Л. Н. Гумилева
010000, Казахстан, Нур-Султан, ул. Сатпаева, 2
E-mail: kornilovaanna@mail.ru

²Институт генетики и физиологии
050060, Казахстан, Алматы, просп. Аль-Фараби, 93

³Национальный исследовательский Томский государственный университет
634050, Томск, просп. Ленина, 36

⁴National Laboratory Astana Назарбаев Университета
010000, Казахстан, Нур-Султан, просп. Кабанбай Батыра, 53

Статья поступила 23.08.2021

После доработки 04.10.2021

Принята к печати 15.10.2021

АННОТАЦИЯ

На территории Южного Казахстана (Алматинская область) имеются старые заброшенные складские помещения с запрещенными к использованию и не утилизируемыми пестицидами, активные вещества и метаболиты которых загрязняют естественные водные источники и пастбища сельскохозяйственных животных, располагающихся рядом. Проведен анализ образцов крови 50 голов крупного рогатого скота с пяти мониторинговых точек Алматинской области на предмет наличия микроядер в эритроцитах, геномных мутаций и хромосомных aberrаций в лимфоцитах. Культивирование клеток и приготовление препаратов производилось стандартными цитогенетическими методиками. Частота эритроцитов с микроядрами у крупного рогатого скота, содержащегося на экспериментальных участках, составила 3,3 %, что в 4,7 раза превысила аналогичный показатель в контрольной группе. Частота возникновения геномных мутаций в системе крови экспериментальных групп животных превысила аналогичный показатель в контрольной группе в среднем в 1,6 раза, а хромосомных aberrаций – в 9,1 раза. Доля гиподиплоидных клеток составила 46 % от общего количества геномных мутаций. На полиплоидию пришлось до 17 %, а гипердиплоидия встречалась в 5 % клеток. Анализ индивидуальных показателей общей цитогенетической нестабильности в системе крови животных показал, что гипердиплоидия и хромосомные aberrации являются основными компонентами данного показателя, который, в среднем по пяти мониторинговым участкам, превысил контрольные данные в 7,9 раза. Статистическая обработка данных позволяет сделать

вывод о генотоксическом действии запрещенных и неутилизованных пестицидов на организм КРС, которые оказывают кластогенный, анеугенный и мутагенный эффекты даже по истечении 30 лет.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, пестициды, лимфоциты периферической крови, хромосомные aberrации, геномные мутации, цитогенетический метод, микроядра.

Пестициды представляют собой искусственно синтезированные химические вещества, используемые в сельском хозяйстве с целью повышения урожайности растениеводства и борьбе с вредителями. Однако для живых организмов такие вещества являются ксенобиотиками, поступление которых в организм нецелевых животных сопряжено с возникновением целого ряда нарушений на уровне не только разных систем органов, таких как иммунная [Lee, 2020], нервная [Islam, 2018], кровеносная [Berg et al., 2019], дыхательная [Tarmure et al., 2020] и др., но и генетического материала соматических клеток. Наиболее тяжелыми последствиями характеризуются нарушения генетического аппарата клетки, в связи с чем изучение генотоксического влияния пестицидов является хорошо изученным вопросом, история которого насчитывает более 50 лет.

Но в последние годы в мире остро стоит другой аспект загрязнения окружающей среды пестицидами и их метаболитами – накопление устаревших и запрещенных пестицидов. По данным Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (The Food and Agriculture Organization), по состоянию на 2014 г. в мире насчитывалось около 300 тыс. т устаревших пестицидов. По их наличию на территории страны Казахстан занимает 6-е место среди стран Восточной Европы (после России, Македонии, Украины, Узбекистана и Болгарии), имея на складах 10 тыс. т подобных поллютантов [The Food and Agriculture Organization, 2021].

Алматинская область как сельскохозяйственный регион страны имеет на своей территории множественные очаги скопления запрещенных и неутилизованных пестицидов, где они располагаются на территории населенных пунктов под открытым небом. За весь срок хранения, подвергаясь воздействию природных факторов, они распространяются на близлежащие территории, где находятся открытые источники воды, пастбищные земли.

Исследования, проведенные в рамках проекта “Комплексная оценка влияния неутили-

зированных и запрещенных к использованию пестицидов на генетический статус и здоровье населения Алматинской области”, показали, что Талгарский район Алматинской области является наиболее загрязненным. В образцах почвы и воды данного района обнаружены остатки таких пестицидов, как альдрин, хлорбензилат, ДДТ, ДДЭ, 4,4-ДДД, дельдрин, эндрин, гептахлорэпоксид, тяжелые металлы Cd, Cu, Ni, с превышением ПДК по каждому из них в несколько раз [Жапбасов и др., 2021]. Все перечисленные пестициды запрещены не только на территории Казахстана, но и в других странах в связи с доказанной генотоксичностью [Обзор..., 2018].

Анализ литературы показал, что грызуны наиболее часто являются объектами исследований генотоксичности пестицидов [Bagri, Jain, 2018; Илюшина и др., 2019; Medina-Buelvas et al., 2019]. Так, в природно-климатических условиях Казахстана ранее проводены исследования генотоксичности пестицидов на примере фипронила, где в качестве объекта исследования выступали только мышевидные грызуны [Колумбаева и др., 2012]. В России проблемой генотоксического влияния пестицидов занимается группа ученых под руководством Н. А. Илюшиной [Егорова и др., 2020; Илюшина, Ревазова, 2020].

Нами в качестве объекта исследования в природно-климатических условиях Казахстана впервые выбраны сельскохозяйственные животные, так как они характеризуются рядом отличительных признаков, позволяющих не только оценить генотоксичность запрещенных и неутилизованных пестицидов на живой организм, что можно сделать и на примере мышевидных грызунов, но и прогнозировать возможные нарушения организма человека этими веществами.

К таким признакам относится не только продолжительность жизни крупного рогатого скота (КРС) – 10–15 лет, которая способствует длительному накоплению пестицидов и их метаболитов в организме (в отличие от мышевидных грызунов), но и особенности кормления животных с использованием травостоя,

растущего на загрязненных пестицидами участках, и водопой из открытых источников воды, в которые с дождями и талой водой постоянно, в течение десятков лет поступают сложные смеси различных пестицидов с территорий заброшенных складов, на которых они хранятся. Человек активно использует продукты животноводства, такие как мясо, молоко, в хозяйстве – шерсть, что приводит к всесторонней подверженности человеческого организма накоплению отрицательного влияния состава окружающей среды на человеческий организм.

Анализ состояния здоровья людей, проживающих в Талгарском районе, показал, что у населения исследуемых точек, подвергающегося острому пестицидному воздействию, наблюдаются изменения в организме, такие как дефицит мышечной массы (на 25–30 % меньше нормы), дефицит воды в организме (от 10 до 15 % меньше нормы) и костной ткани (10 % меньше нормы), снижение когнитивных способностей (существенное снижение работоспособности с характерным преобладанием в ЦНС тормозных реакций, развития утомления и астенизации организма) [Капышева и др., 2019].

В связи с вышесказанным перед нами стояла цель изучить генотоксическое действие запрещенных и не утилизированных пестицидов на организм сельскохозяйственных животных, содержащихся в Алматинской области.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКИ

Территория исследований

По данным международного мониторинга в 2009–2010 гг. на территории Алматинской области имеется 64 склада, на которых хранятся химические средства защиты растений, они располагаются в 10 из 17 районов указанной области. По подсчетам, на этих складах находится 68 443 кг устаревших и не пригодных к использованию пестицидов, среди которых 350 кг относятся к запрещенным, а еще на 32 550 кг отсутствуют обозначения их химического состава.

Для исследования нами выбран Талгарский район, в нем определены четыре населенных пункта (села Кызылкайрат, Бескайнар, Бельбулак, Енбекши), на территории которых имеются пастбищные земли и содержатся сельскохозяйственные животные (рис. 1).



Рис. 1. Расположение экспериментальных и контрольных точек на карте Алматинской области Южного Казахстана

Согласно официальным данным Территориального управления Талгарского района и результатам мониторинга (2010 г.) на исследуемой территории находилось шесть складов, на которых в течение многих лет хранились пестициды, пришедшие в непригодность и нуждающиеся в утилизации. В общей сложности на этих складах имелось более 5500 кг, среди них такие пестициды, как фазолон, хлорофос, гранозан, нисаран, децис, нитрофен, фосфид цинка, метафос, севин и фосфамид (Бескайнар), иллоксан, протразин, атразин, трефлан, зиазин (Енбекши), а также большое количество смеси пестицидов без опознавательных знаков [Жалбасов и др., 2021].

Для изучения частоты хромосомных aberrаций и геномных мутаций контрольная группа представлена животными, содержащимися на территории вблизи г. Ушарал Алматинской области, где в момент первичного забора крови животных (2017 г.) отсутствовали склады пестицидов, так как растениеводство практически не развивалось в этом регионе. Однако к моменту забора крови для микроядерного теста (2020 г.) этот район активно приступил к расширению растениеводческих хозяйств, что привело к повышению уровня использования пестицидов, в связи с чем этот участок не мог являться контрольным для данного исследования. Поэтому для определения частоты встречаемости микроядер в эритроцитах животных контрольная группа КРС сформирована из животных, содержащихся на пастбищных участках, расположенных в участке Караой Илийского района Алматинской области, где в связи с полным отсутствием развитого овощеводства и плодоводства не проводится обработка почвы пестицидами и поэтому нет складов, где они могли бы храниться.

Животные, участвующие в исследовании

На территории пяти экспериментальных точек сформированы опытные группы, включающие по 10 голов КРС разного возраста и пола, итого 50 животных. Периферическая кровь для исследования бралась ветеринаром с соблюдением стерильности из яремной вены животного в вакуумную пробирку (Ayset) с антикоагулянтом – гепарином. Процедура

абсолютно безболезненна и не представляет опасности для жизни и здоровья животных.

На территории контрольных участков также сформированы группы, состоящие из 10 разновозрастных и разнополых животных. Забор крови для исследования проводился стандартной процедурой, использующейся на экспериментальных участках. Таким образом, общая выборка для исследования составила 60 животных.

Культивирование клеток

Кровь испытуемых животных (0,5 мл) культивировали в питательной среде (4 мл), приготовленной на основе среды 199 с солями Хенкса (ОО НПП “ПанЭко”) с добавлением 1 мл телячьей сыворотки (ОО НПП “ПанЭко”) и 0,2 мл фитогемагглютинаина (ОО НПП “ПанЭко”), в течение 72 часов при температуре 37 °С. На 70-м часу инкубации с целью блокирования клеточного деления на стадии метафазы добавили 0,4 мл раствора колхицина (ОО НПП “ПанЭко”).

Цитогенетическое исследование

По истечении времени культивирования клетки подвергались центрифугированию и гипотенизации раствором 0,56 % KCl в течение 20 минут, а затем фиксации раствором Карнуа (этиловый спирт/ледяная уксусная кислота 3 : 1). Препараты для анализа хромосомных aberrаций готовились согласно общепринятой цитогенетической методике. Препараты кодировались и окрашивались 4%-м раствором Гимзы (ОО НПП “ПанЭко”).

Для обнаружения геномных мутаций и хромосомных aberrаций анализировалось не менее ста метафаз от каждого животного, рассчитывалась доля клеток с нарушениями хромосом из общего количества изученных метафаз.

Микроядерный тест

На очищенных предметных стеклах делали мазки крови унифицированным методом (1979 г.). Препараты кодировали, сушили на воздухе, фиксировали и окрашивали методом Папенгейма и по Романовскому – Гимзе. Подсчитывалось количество эритроцитов, имеющих микроядра в 3000 клетках каждого животного.

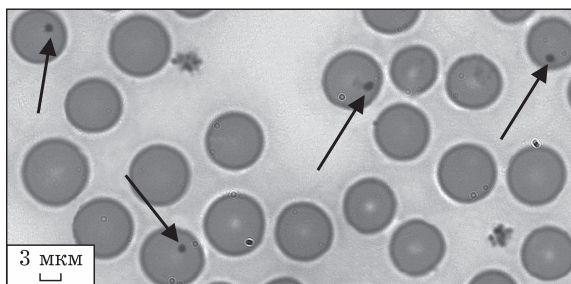


Рис. 2. Микроядра (показаны стрелками) в эритроцитах КРС № 4 из с. Бескайнар

Статистический анализ

Для статистического анализа использовался расчет доверительного интервала для долей, обработка полученных данных и построение диаграмм производилась в программе MS Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Использование микроядерного теста и анализ частоты встречаемости хромосомных aberrаций и геномных мутаций являются “золотым стандартом” в исследовании влияния генотоксикантов на живой организм. Разработка основных постулатов микроядерного теста принадлежит российскому ученому Н. Н. Ильинских [Ильинских и др., 2011], ставшему автором ряда научных трудов, включающих широкий спектр научных ис-

следований с использованием указанного метода [Mathew, 2012].

На рис. 2, 3 представлены данные о частоте встречаемости микроядер в эритроцитах КРС, содержащихся на пастбищных территориях экспериментальных и контрольной точек Алматинской области.

Из рис. 3 видно, что частота встречаемости микроядер в эритроцитах КРС достоверно превышает ее в контрольной группе. Наибольшее количество микроядер обнаружено в эритроцитах КРС из с. Басши (3,68 %) и Кызылкайрат (3,55 %).

Закономерностей частоты встречаемости микроядер в эритроцитах в зависимости от возраста КРС не обнаружено. Так, например, среди животных, содержащихся на территории с. Енбекши, максимальная и минимальная частота микроядер обнаружена в образцах крови, полученных от коров одного возраста – 7 лет (животное № 2 и № 6 соответственно).

Данные, полученные в результате цитогенетического анализа 5941 метафазной клетки периферической крови КРС из экспериментальных и контрольной точек, представлены на рис. 4, 5 и в таблице.

Как видно из рис. 4, частота клеток с геномными мутациями и хромосомными aberrациями во всех экспериментальных точках достоверно превышает аналогичные показатели в контрольной группе. В среднем частота кле-

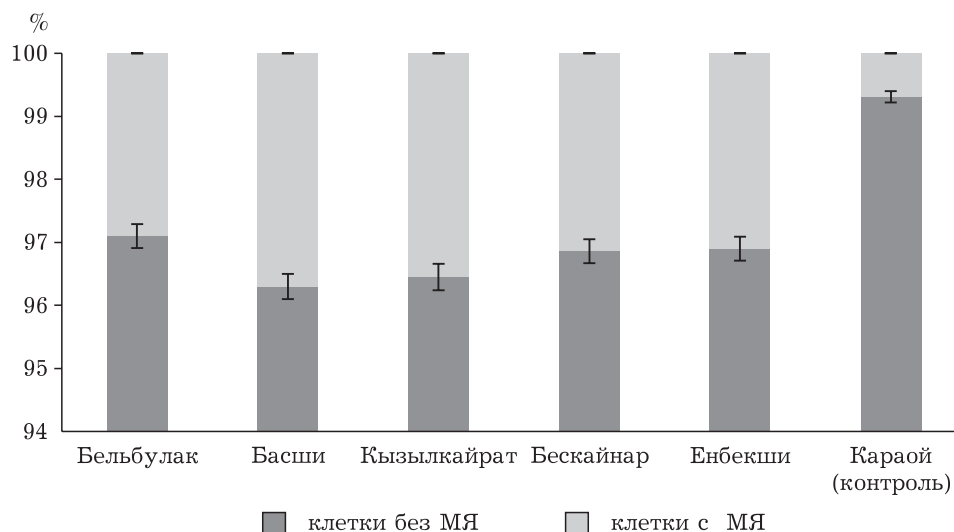


Рис. 3. Частота встречаемости у КРС клеток с микроядрами (МЯ) в экспериментальных и контрольной точках Алматинской области Южного Казахстана. Здесь на оси ординат отложены частоты встречаемости у КРС клеток с микроядрами (%). Указаны 95%-е доверительные интервалы

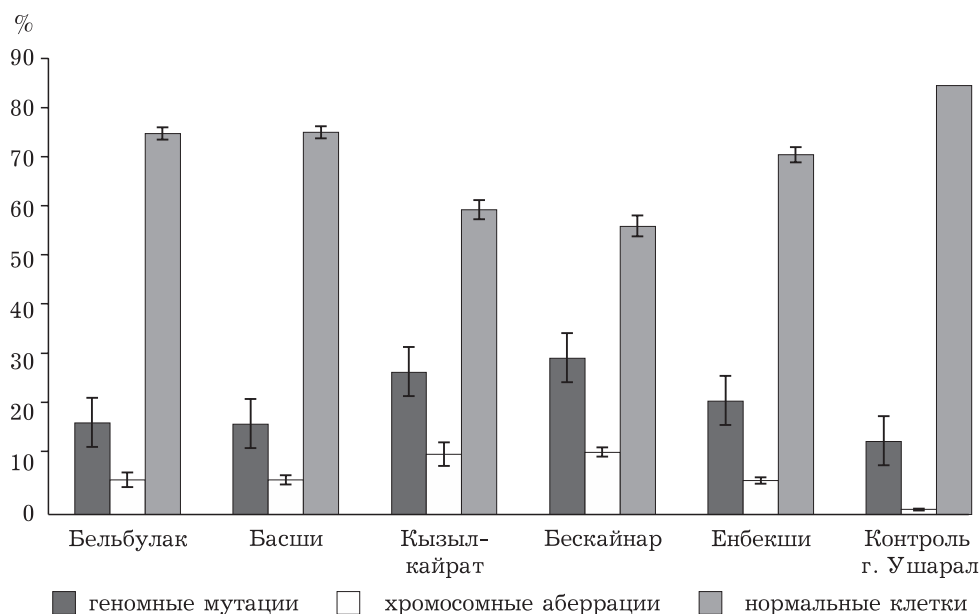


Рис. 4. Частота встречаемости у КРС нормальных клеток и клеток с геномными мутациями и хромосомными aberrациями в экспериментальных и контрольной точках Алматинской области Южного Казахстана. По оси ординат отложены частоты встречаемости у КРС клеток с геномными мутациями и хромосомными aberrациями (%). Указаны 95%-е доверительные интервалы

ток с геномными мутациями выше контрольных данных в 1,6 раза, а хромосомных – в 9,1.

Из обнаруженных мутаций (см. рис. 5) 32 % приходится на хромосомные, среди которых встречались концевые делеции в хроматидах аутосом и половых хромосом, разрывы в районе центромеры хромосом, робертсоновские транслокации двух акроцентрических хромосом, различные типы пробелов в хроматидах (рис. 6), пульверизация отдельных хромосом в метафазной пластинке, что является характерной чертой при повреждении химическими агентами.

68 % всех обнаруженных генетических нарушений классифицируются как геномные мутации, из них 46 % приходится на гиподиплоидию, 17 % – полиплоидию, 5 % – гипердиплоидию.

Однако стоит отметить, что высокая частота встречаемости гиподиплоидии может быть обусловлена методическими приемами приготовления препаратов, так как потеря одной из хромосом может возникнуть вследствие обработки культуры клеток гипотоническим раствором или его фиксации. Поэтому исключение этого параметра из общего уровня цитогенетической нестабильности позволяет бо-

лее достоверно оценить влияние химических мутагенов среды на организм млекопитающих.

Поскольку гипердиплоидия и хромосомные aberrации не могут появляться в результате технологического процесса приготовления препаратов метафазных хромосом, совокупность этих двух цитогенетических параметров является надежным критерием генотоксического влияния не утилизируемых и запрещенных пестицидов.

С учетом этих критериев, общий уровень цитогенетической нестабильности у животных

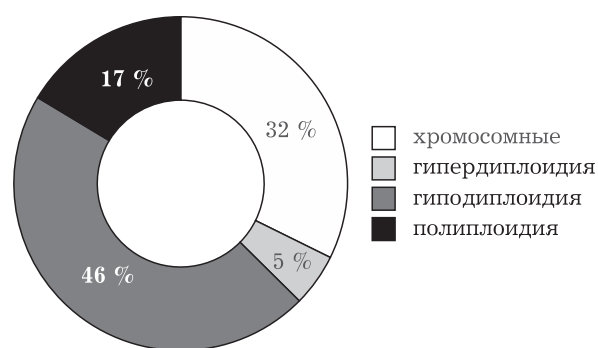


Рис. 5. Частота встречаемости у КРС клеток с геномными мутациями и хромосомными aberrациями в экспериментальных точках Алматинской области Южного Казахстана

**Общий уровень цитогенетической нестабильности у КРС из экспериментальных и контрольной точек
Алматинской области Южного Казахстана**

№ п/п	Населенный пункт	Количество животных	Изучено метафазных клеток	Уровень цитогенетической нестабильности, $f \pm s_f$ (%)		
				А	В	С
1	Бельбулак	9	919	$24,62 \pm 2,99$	$12,0 \pm 1,8$	$8,09 \pm 1,64$
2	Басши	9	993	$24,61 \pm 1,77$	$11,79 \pm 0,96$	$7,97 \pm 0,8$
3	Кызылкайрат	10	1278	$39,91 \pm 3,72$	$21,32 \pm 3,22$	$13,82 \pm 2,62$
4	Бескайнар	10	1226	$42,81 \pm 3,33$	$23,72 \pm 2,47$	$15,3 \pm 1,45$
5	Енбекши	9	997	$29,06 \pm 1,93$	$12,74 \pm 1,22$	$8,1 \pm 0,78$
6	Ушарал (контроль)	10	534	$15,01 \pm 1,67$	$3,03 \pm 0,41$	$1,35 \pm 0,21$

П р и м е ч а н и е. А – общий уровень цитогенетической нестабильности с учетом клеток с гиподиплоидным, гипердиплоидным и полиплоидным наборами хромосом, а также клеток с хромосомными aberrациями; В – уровень цитогенетической нестабильности с учетом клеток только с гипердиплоидным и полиплоидным набором хромосом, а также клеток с хромосомными aberrациями; С – уровень цитогенетической нестабильности с учетом клеток только с гипердиплоидным набором хромосом и клеток с хромосомными aberrациями.

разбиты на отдельные показатели (А, В, С). Показатель А представляет собой сумму частот встречаемости клеток геномных мутаций и хромосомных aberrаций, В – вычитание из показателя А количества клеток с гиподиплоидией, С – вычитание из показателя В количества полиплоидных клеток с объединением в этот показатель только клеток с гипердиплоидным набором с хромосомными aberrациями (см. таблицу).

Такая детализация показателя общей цитогенетической нестабильности позволяет проследить, какие из геномных мутаций и хромосомных aberrаций вносят наибольший вклад

в имеющийся генотоксичный эффект запрещенных и неутилизованных пестицидов.

Расчет и анализ показателей цитогенетической нестабильности в клетках КРС показали неэффективность сравнения контрольной и экспериментальных групп по показателю А (сумма частот гипердиплоидии, гаплодиплоидии, полиплоидии, хромосомных aberrаций). Согласно полученным нами данным, в экспериментальных группах он превышает контрольную только в среднем в 2,1 раза. Более наглядными являются показатели В (сумма частот гипердиплоидии, полиплоидии и хромосомных aberrаций) и С (сумма частот гипердиплоидии и хромосомных aberrаций), так как они в экспериментальных группах превышают контрольные данные в среднем в 5,4 и 7,9 раза соответственно. Эти данные достоверно указывают, что основными нарушениями, возникающими под влиянием химических факторов окружающей среды, являются гипердиплоидия и хромосомные aberrации.

ОБСУЖДЕНИЕ

Имеется ряд публикаций, в рамках которых проводилось тестирование пестицидов на генотоксичность с использованием культуры клеток сельскохозяйственных животных, например овец [Piesova, Sivikova, 1997; Pistl et al., 2003; Šutiaková et al., 2010; Çelik et al., 2019] и КРС [Šiviková et al., 2013; Schwarzbacharová et al., 2015, 2016; Galdíková et al., 2015; Drážovská et al., 2016]. Однако все перечислен-

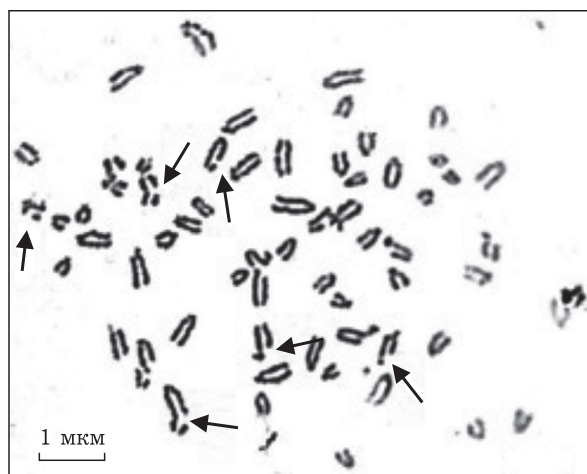


Рис. 6. Метафазная клетка КРС № 6 из точки с. Белбулак. Стрелками указаны множественные делеции в акроцентрических хромосомах (фрагменты не отошли от хроматиды), разрыв в районе центромеры акроцентрической хромосомы. Фото А. М. Жомартова

ные работы описывают лабораторные эксперименты, в которых изучаемое вещество (чаще всего один пестицид) добавляется в культуру клеток. В связи с этим, вероятно, в данных работах не получено значимого увеличения количества микроядер. В отличие от них, наши исследования показали, что животные, содержащиеся на экспериментальных участках, достоверно имеют повышенный уровень эритроцитов с микроядрами, их количество варьируется в пределах от 2,89 до 3,68 %.

Помимо этого цель вышецитированных работ заключалась в изучении влияния одного пестицида в чистом виде или производственной формулы, включающей в себя два препарата. Исследование комплекса препаратов встречается в работе А. Tsatsakis [Tsatsakis et al., 2019], который с соавторами изучали влияния смеси шести пестицидов и семи пищевых добавок на организм крыс в течение 18 месяцев. Авторы показали, что такой комплекс веществ способствовал повышению количества микроядер в клетках разных органов и тканей: кровь (эритроциты), половые железы, печень, желудок, легкие, мозг, сердце, селезенка, поджелудочная железа, мышцы, матка. Полученные нами данные исследования согласуются с вышеуказанными результатами, показав значимое увеличение количества микроядер в эритроцитах крупного рогатого скота экспериментальных участков в среднем более чем в 4,5 раза.

Из литературы известно, что пестициды и их метаболиты действуют на организм не только как мутагены, тератогены и кластогены, но и как митостатики, нарушающие сегрегацию хромосом за счет блокирования веретена деления [Левицкий и др., 1998]. Наиболее часто микроядра образуются в результате повреждения хромосом, которые, разрываясь, приводят к формированию дицентрических [Saunders et al., 2000; Gisselsson et al., 2002; Plug-DeMaggio et al., 2004; Rao et al., 2008] или нетипичных кариотипу вида акроцентрических [Fenech, 2006; Kirsch-Volders et al., 2013; Terradas et al., 2016] хромосом, оказывая тем самым кластогенный эффект. В связи с чем микроядерный тест наглядно демонстрирует генотоксичный эффект отрицательных факторов на живой организм. Особенно часто он используется при исследовании последствий воздействия

на организм химических факторов окружающей среды, таких как пестициды. Так, достоверное повышение количества микроядер в клетках млекопитающих, подвергшихся воздействию пестицидов, показано в организме мышей, крыс и овец [Piesova, Sivikova, 1997; Pistl et al., 2003; Šutiaková et al., 2010], КРС [Schwarzbacherová et al., 2019; Ferreé et al., 2020].

Помимо микроядерного теста, традиционным и эффективным методом определения степени генотоксичности фактора окружающей среды является цитогенетический анализ геномных мутаций и хромосомных aberrаций. В литературе имеются сведения, что уровень полиплоидизации хромосомного набора является показателем активной ликвидации поврежденных в результате влияния генотоксичного фактора окружающей среды клеток. Мы обнаружили клетки с полиплоидными наборами хромосом в образцах крови от каждого животного из всех экспериментальных участков. При сравнительном изучении высокого уровня радиационного облучения авторы показали, что у мышевидных грызунов статистически значимое увеличение доли полиплоидных наборов в клетке интерпретируется как показатель генотоксичности территории, потенциально опасной для живых организмов [Рябонь, 1999].

Хорошо известно, что “потеря хромосомы или появление в наборе лишнего гомолога способны вызвать как гибель клетки, так и развитие различного рода новообразований с высокой степенью малигнизации” [Васильев и др., 2009]. Более того, именно мутагены химической природы, такие как пестициды, обычно индуцируют анеуплоидию. Такой эффект объясняется одной из теорий возникновения злокачественных новообразований, которая называется теорией анеуплоидии. В рамках этой точки зрения появление дополнительной хромосомы в наборе рассматривается как источник нестабильности генетического материала, вызывающий дестабилизацию белков, способствующих сегрегации хромосом, порождая новые нарушения в клетке, благодаря чему такой эффект в литературе часто называется автокаталитическим [Duesberg et al., 2004].

Традиционным является выделение среди группы хромосомных aberrаций нарушений,

происходящих только в одной хроматиде и одновременно в обеих хроматидах. Первые получили название хроматидные и являются индикаторами отклонений, происходящих после репликации ДНК, вторые – хромосомные, показывают нарушения, происходящие до S-периода клеточного цикла, поэтому имеются в обеих хроматидах одновременно. Ряд авторов показал способность пестицидов индуцировать хромосомные aberrации обоих типов в клетках костного мозга мышей [Yahia, Marwa, 2019], что объясняется способностью пестицидов вызывать повреждения генетического материала как до, так и после синтеза ДНК [Bagri, Jain, 2018].

В наших исследованиях число aberrаций хроматидного типа преобладает над хромосомными. Это объясняется тем, что химические составляющие и метаболиты пестицидов, являясь митостатиками, нарушают работу нитей веретена деления, приводя к таким хроматидным aberrациям, как разрывы, обмены, пробелы, делеции. Схожие данные получены в работе, проведенной на лейкоцитах КРС под воздействием пестицида тиаклоприда [Galdíková, 2019].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, выявленный нами значительно высокий уровень нарушений в количестве и структуре хромосом (геномные мутации встречаются чаще в 1,6 раза, а хромосомные – в 9,1), а также в количестве микроядер (превышение в 4,5 раза) в клетках крови экспериментальных животных свидетельствует, что неутилизованные и запрещенные пестициды имеют генотоксичное влияние на организм КРС, содержащихся на исследуемых пяти мониторинговых участках. Многократное превышение ПДК пестицидов, обнаруженные в мясе и молоке, производимыми на исследуемых территориях, приводит к тому, что, накапливаясь в тканях сельскохозяйственных животных, они оказывают кумулятивное воздействие и через продукты животного происхождения, по цепи питания, попадают в организм человека. Таким образом, люди, проживающие в данных населенных пунктах Алматинской области, еще больше подвергаются влиянию неутилизованных и запрещенных пестицидов.

ЛИТЕРАТУРА

- Васильев С. А., Тимошевский В. А., Лебедев И. Н. Анеугенный эффект ионизирующего излучения в соматических клетках млекопитающих и человека // Генетика. 2009. Т. 45, № 12. С. 1589–1599.
- Ильинских Н. Н., Ксенц А. С., Ильинских Е. Н., Манских В. Н., Ильинских И. Н. Микроядерный анализ в оценке цитогенетической нестабильности. Томск: Изд-во ТГПУ, 2011. 312 с.
- Илюшина Н. А., Ревазова Ю. А. Генотоксическая активность смесей пестицидов // Токсикол. вестн. 2020. Т. 3, № 9. С. 13.
- Илюшина Н. А., Егорова О. В., Аверьянова Н. С., Масальцев Г. В., Ракитский В. Н. Генотоксичность модельных комбинаций действующих веществ пестицидов в тестах на бактериях *Salmonella typhimurium* и эритроцитах костного мозга мышей *in vivo* // Здравоохранение Российской Федерации. 2019. Т. 63, № 4. С. 193–198.
- Егорова О. В., Илюшина Н. А., Аверьянова Н. С., Кара Л. А., Демидова Ю. В., Масальцев Г. В., Прокофьев Е. А., Ревазова Ю. А. Генотоксические свойства некоторых фосфорорганических пестицидов // Мед. генетика. 2020. Т. 19, № 9. С. 72–73.
- Жапбасов Р., Жомартов А. М., Досыбаев К. Ж., Корнилова А. А., Мусабаева Г., Ахметжан С., Джансугурова Л., Сеизгаин М., Бекманов Б. О. Оценка цитогенетического последствия воздействия неутилизованных и запрещенных к использованию пестицидов на организм овец // Эксп. Биол. 2021. Vol. 1, N 86. Р. 98–108.
- Каптышева У. Н., Бахтиярова Ш. К., Жаксымов Б. И. Влияние многолетнего пестицидного загрязнения окружающей среды на здоровье человека // Междун. журн. прикл. и фундамент. исслед. 2019. № 3. С. 56–60.
- Колумбаева С. Ж., Бегимбетова Д. А., Ловинская А. В., Калимагамбетов А. М. Хромосомная нестабильность у грызунов с загрязненных фенилпирозолами территорий Южно-Казахстанской области // Вестн. КазНУ. Серия экологическая. 2012. Т. 34, № 2. С. 95–98.
- Левицкий Е. Л., Марченко А. Н., Губский Ю. И. Механизмы генотоксичности фосфорорганических соединений // Соврем. пробл. токсикологии. 1998. № 1. С. 47–50.
- Обзор о выполнении обязательств Республики Казахстан по Стокгольмской конвенции о СОЗ. Аналитическое экологическое агентство “Greenwomen”. 2018. 131 с.
- Рябоконь Н. И. Биологические эффекты в природных популяциях мелких грызунов на территориях, загрязненных радионуклидами. Частота полиплоидных клеток костного мозга у рыжей полевки в разные годы после Чернобыльской катастрофы // Радиационная биология. Радиоэкология. 1999. Т. 39, № 6. С. 613–618.
- Bagri P., Jain S. K. Assessment of acetamiprid-induced genotoxic effects in bone marrow cells of Swiss albino male mice // Drug and Chem. Toxicol. 2018. Vol. 42, N 4. P. 357–363.
- Berg Z. K., Rodriguez B., Davis J., Katz A. R., Cooney R. V., Masaki K. Association Between Occupational Exposure to Pesticides and Cardiovascular Disease Incidence: The Kuakini Honolulu Heart Program // J. Am. Heart Assoc. 2019. Vol. 8, N 19. P. 1–9.

- Çelik A., Güler G., Cuma Aktaş, Serap Yalin. Genotoxic action of Luna Experience-SC 400 fungicide on rat bone marrow // *Biomarkers*. 2019. Vol. 24, N 7. P. 720–725.
- Duesberg P., Fabarius A., Hehlmann R. Aneuploidy, the primary cause of the multilateral genomic instability of neoplastic and preneoplastic cells // *IUBMB Life*. 2004. Vol. 56. P. 65–81.
- Drážovská M., Šiviková K., Holečková B., Dianovský J., Galdíková M., Schwarzbacherová V. Evaluation of potential genotoxic/cytotoxic effects induced by epoxiconazole and fenpropimorph-based fungicide in bovine lymphocytes in vitro // *J. Environ. Sci. and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*. 2016. Vol. 51, N 11. P. 769–776.
- Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus assay evolves into a “cytome” assay of chromosomal instability, mitotic dysfunction and cell death // *Mutation Research*. 2006. Vol. 600, N 1–2. P. 58–66.
- Ferré D. M., Jotallan P. J., Lentini V. et al. Biomonitoring of the hematological, biochemical and genotoxic effects of the mixture cypermethrin plus chlorpyrifos applications in bovines // *Sci. Total Environ*. 2020. Vol. 726.
- Galdíková M., Holečková B., Šiviková K., Schwarzbacherová V., Koleníčová S. Evaluating the genotoxic damage in bovine whole blood cells in vitro after exposure to thiacloprid // *Toxicology in Vitro*. 2019. Vol. 61.
- Galdíková M., Šiviková K., Holečková B., Dianovský J., Drážovská M., Schwarzbacherová V. The effect of thiacloprid formulation on DNA/chromosome damage and changes in GST activity in bovine peripheral lymphocytes // *J. Environ. Sci. and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*. 2015. Vol. 50, N 10. P. 689–707.
- Gisselsson D., Jonson T., Yu C. et al. Centrosomal abnormalities, multipolar mitoses, and chromosomal instability in head and neck tumours with dysfunctional telomeres // *British J. Cancer*. 2002. Vol. 87, N 2. P. 202–207.
- Islam A., Malik M. F. Toxicity of Pesticides on CNS // *J. Toxicol. Anal.* 2018. Vol. 1, N 1. 07.
- Kirsch-Volders M., Bonassi S., Knasmueller S., Holland N., Bolognesi C., Fenech M. F. Commentary: critical questions, misconceptions and a road map for improving the use of the lymphocyte cytokinesis-block micronucleus assay for in vivo biomonitoring of human exposure to genotoxic chemicals—a HUMN project perspective // *Mutat. Res. / Rev. in Mutat. Res*. 2013. Vol. 759. P. 49–58.
- Lee Gun-Hwi., Choi Kyung-Chul. Adverse effects of pesticides on the functions of immune system // *Comp. Biochem. Physiol. Part C*. 2020. Vol. 235.
- Mathew J., Thoppil John E. Genotoxicity of methyl parathion and antimutagenic activity of *Salvia Officinalis* L. (Sage) extracts in swiss albino mice // *Asian J. of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2012. Vol. 5, N 2. P. 164–170.
- Medina-Buelvas D., Estrada-Muñiz E., Flores-Valadez M., Vega L. Genotoxic and immunotoxic effects of the organophosphate metabolite T diethyldithiophosphate (DEDTP) in Vivo // *Toxicol. and Appl. Pharmacol*. 2019. Vol. 366. P. 96–103.
- Piesova E., Sivikova K. Induction of micronuclei and sister chromatid exchanges in sheep lymphocyte cultures by herbicide chloridazon // *Acta Veterinaria Brno*. 1997. Vol. 66, N 4. P. 229–234.
- Pistl J., Sutiakova I., Mikula I. The determination of the immunotoxic and genotoxic potential of fungicide dichlofluanid on sheep leukocytes in vitro // *Folia Veterinaria*. 2003. Vol. 46, N 2. P. 30–31.
- Plug-DeMaggio A. W., Sundsvold T., Wurscher M. A., Koop J. I., Klingelutz A. J., McDougall J. K. Telomere erosion and chromosomal instability in cells expressing the HPV oncogene 16E 6 // *Oncogene*. 2004. Vol. 23, N 20. P. 3561–3571.
- Prevention and Disposal of Obsolete Pesticides [Электронный ресурс] / The Food and Agriculture Organization. – Режим доступа: <http://www.fao.org/agriculture/crops/obsolete-pesticides/where-stocks/europe-stocks/en/>, свободный.
- Rao X. et al. Multiple origins of spontaneously arising micronuclei in HeLa cells: direct evidence from long-term live cell imaging // *Mutat. Res./Fund. and Mol. Mech. of Mutagen*. 2008. Vol. 646, N 1–2. P. 41–49.
- Saunders W. S., Shuster M., Huang X. et al. Chromosomal instability and cytoskeletal defects in oral cancer cells // *Proc. Nat. Acad. Sci*. 2000. Vol. 97, N 1. P. 303–308.
- Schwarzbacherová V., Šiviková K., Drážovská M., Dianovský J. Evaluation of DNA damage and cytotoxicity induced by triazole fungicide in cultured bovine lymphocytes // *Caryologia*. 2015. Vol. 68, N 3. P. 233–238.
- Schwarzbacherová V., Šiviková K., Holečková B., Dianovský J. Micronucleus assay in genotoxicity assessment // *Acta Fytotechn. Zootechny*. 2016. Vol. 19. P. 93–95.
- Schwarzbacherová V., Wnuk M., Deregowska A., Holečková B., Lewinska A. *In vitro* exposure to thiacloprid-based insecticide formulation promotes oxidative stress, apoptosis and genetic instability in bovine lymphocytes // *Toxicology In Vitro*. 2019. Vol. 61.
- Šiviková K., Dianovský J., Holečková B., Galdíková M., Kolesárová V. Assessment of cytogenetic damage in bovine peripheral lymphocytes exposed to in vitro tebuconazole-based fungicide // *Chemosphere*. 2013. Vol. 92. P. 555–562.
- Šutiaková I., Kovalkoviová N., Legáth J., Šutiak V. Micronucleus frequency in sheep lymphocytes after in vitro exposure to fungicide tolylfluanid // *J. Environ. Sci. and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*. 2010. Vol. 45, N 7. P. 606–611.
- Tarmure S., Alexescu T. G., Orasan O. et al. Influence of pesticides on respiratory pathology – a literature review // *The Ann. Agricult. and Environ. Med*. 2020. Vol. 27, N 2. P. 194–200.
- Terradas M., Martín M., Genescà A. Impaired nuclear functions in micronuclei results in genome instability and chromothripsis // *Arch. Toxicol*. 2016. Vol. 90, N 11. P. 2657–2667.
- Tsatsakis A., Docea A. O., Constantin C., Calina D., Zlatian O., Nikolouzakakis T. K., Stivaktakis P. D., Kalogeraki A., Liesivuori J., Tzanakakis G., Neagu M. Genotoxic, cytotoxic, and cytopathological effects in rats exposed for 18 months to a mixture of 13 chemicals in doses below NOAEL levels // *Toxicol. Lett*. 2019. Vol. 316. P. 154–170.
- Yahia D., Marwa F. Ali. Cytogenetic and genotoxic effects of penconazole and chlorpyrifos pesticides in bone marrow of rats // *J. Adv. Vet. Res*. 2019. Vol. 9, N 2. P. 29–38.

Genotoxic effect of unused and banned pesticides on the body of cattle kept on the territory of South Kazakhstan

A. A. KORNILOVA¹, R. Zh. ZHAPBASOV², A. M. ZHOMARTOV², A. K. SIBATAEV^{1, 3},
D. A. BEGIMBETOVA⁴, B. O. BEKMANOV²

¹*Eurasian National University named after L. N. Gumilyov
010000, Kazakhstan, Nur-Sultan, Satapaeva st., 2
E-mail: kornilovaanna@mail.ru*

²*Institute of Genetics and Physiology
050060, Kazakhstan, Almaty, Al-Farabi av., 93*

³*National Research Tomsk State University
634050, Russia, Tomsk, Lenin av., 36*

⁴*National Laboratory Astana of Nazarbayev University
010000, Kazakhstan, Nur-Sultan, Kabanbai Batyr av., 3*

On the territory of South Kazakhstan (Almaty region) there are old abandoned warehouses with prohibited and unused pesticides, the active substances and metabolites of which pollute natural water sources and pastures of farm animals located nearby. The analysis of blood samples of 50 heads of cattle from five monitoring points of the Almaty region was carried out for the presence of micronucleus in erythrocytes, genomic mutations and chromosomal aberrations in lymphocytes. Cell cultivation and preparation of preparations were carried out by standard cytogenetic methods. The frequency of erythrocytes with micronucleus in cattle kept in experimental plots was 3.3 %, which is 4.7 times higher than in the control group. The incidence of genomic mutations in the blood system of experimental groups of animals exceeded the same indicator in the control group by an average of 1.6 times, and chromosomal aberrations – by 9.1 times. The proportion of hypodiploid cells was 46 % of the total number of genomic mutations. Polyploidy accounted for up to 17 %, and hyperdiploidy was found in 5 % of cells. Analysis of individual indicators of general cytogenetic instability in the blood system of animals showed that hyperdiploidy and chromosomal aberrations are the main components of this indicator, which, on average for five monitoring sites, exceeded the control data by 7.9 times. Statistical data processing allows us to make a conclusion about the genotoxic effect of prohibited and unused pesticides on the body of cattle, which have clastogenic, aneugene and mutagenic effects even after 30 years.

Key words: cattle, pesticides, peripheral blood lymphocytes, chromosomal aberrations, genomic mutations, cytogenetic method, micronucleus.