

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2021

Аверьянова Н.С., Кара Л.А., Егорова О.В., Илюшина Н.А.

Изучение первичных повреждений ДНК в костном мозге мышей при комбинированном действии пестицидов

ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 141014, Московская область, г. Мытищи, Российская Федерация

Введение. Изучение потенциальных негативных эффектов комбинаций нескольких действующих веществ пестицидов является актуальной и малоизученной областью токсиколого-гигиенических исследований. Начальным звеном действия генотоксикантов на генетические структуры в клетках являются первичные повреждения молекулы ДНК, выявление которых позволяет оценить ранние стадии генотоксического действия ксенобиотиков и их смесей. Для этих целей широко применяется метод «ДНК-комет».

Цель исследования – изучение первичных повреждений ДНК при комбинированном действии пестицидов.

Материал и методы. Эксперименты по оценке повреждений ДНК методом щелочного кометного анализа проводили на мышах линии CD-1 обоих полов. В качестве маркера перекисного окисления липидов оценивали концентрацию активных продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), в сыворотке крови белых аутбредных крыс.

Результаты. Установлено, что смеси 2,4-Д-кислота + глифосат и тирам + карбендазим не вызывают образования разрывов и щелочеллабильных сайтов в ДНК клеток костного мозга мышей. Экспозиция с комбинацией технических продуктов каптана и флудиоксона индуцировала образование разрывов и щелочеллабильных сайтов в ДНК клеток костного мозга животных. Сопоставление результатов оценки генотоксичности методом ДНК-комет и анализа концентрации ТБК-активных продуктов в сыворотке крови крыс свидетельствует о том, что наблюдаемые первичные повреждения ДНК при экспозиции с комбинацией каптана и флудиоксона могут быть опосредованы индукцией перекисного окисления липидов и последующим взаимодействием образующихся продуктов с нуклеиновыми кислотами.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о том, что некоторые пестициды при комбинированном действии могут повреждать наследственный материал в клетках млекопитающих. Поэтому с целью обеспечения безопасного для здоровья населения применения пестицидов при проведении токсиколого-гигиенической оценки их опасности необходимо учитывать данные о генотоксичности не только отдельных технических продуктов действующих веществ пестицидов, но и их комбинаций.

Ключевые слова: генотоксичность; метод щелочного гель-электрофореза единичных клеток (метод «ДНК-комет»); пестициды; комбинированное действие

Для цитирования: Аверьянова Н.С., Кара Л.А., Егорова О.В., Илюшина Н.А. Изучение первичных повреждений ДНК при комбинированном действии пестицидов. *Токсикологический вестник*. 2021; 29(4): 14-21.

DOI: <https://doi.org/10.36946/0869-7922-2021-29-4-14-21>

Для корреспонденции: Аверьянова Наталья Сергеевна, кандидат биол. наук, старший научный сотрудник отдела генетической токсикологии ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 141014, Московская область, г. Мытищи. E-mail: averianovans@fferisman.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарность. Работа выполнена в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека на 2016–2020 гг. «Гигиеническое научное обоснование минимизации рисков здоровью населения России».

Участие авторов: Аверьянова Н.С. – сбор и обработка материала, сбор литературных данных, написание текста; Кара Л.А. – сбор и обработка материала, статистический анализ; Егорова О.В. – сбор материала и литературных данных, написание текста; Илюшина Н.А. – концепция и дизайн исследования, обработка материала, написание текста. Все соавторы – утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Поступила в редакцию 08 июня 2021 / Принята в печать 29 июля 2021 / Опубликована 30 августа 2021

Averianova N.S., Kara L.A., Egorova O.V., Ilyushina N.A.

The study of primary DNA damage in the bone marrow of mice under the combined action of pesticides

Federal Budgetary Establishment of Science "F.F. Erisman Federal Scientific Center of Hygiene" of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 141014, Mytishchi, Moscow region, Russia

Introduction. The study of the potential negative effects of combinations of several pesticide active ingredients is an important and understudied area of toxicological and hygienic research. The initial phase of the genotoxicant action on the genetic structures in cells is the primary DNA damage, the identification of which makes it possible to assess the early stages of the genotoxic effect of xenobiotics and their mixtures. The DNA comet assay is widely used for these purposes.

The aim of the research is to assess the primary DNA damage under the combined action of pesticides.

Materials and methods. To assess DNA damage the experiments on CD-1 mice of both sexes were performed using alkaline comet analysis. The concentration of active products reacting with thiobarbituric acid (TBA) in the blood serum of white outbred rats was assessed as a marker of lipid peroxidation.

Results. It was found that mixtures of 2,4-D-acid + glyphosate and thiram + carbendazim did not cause the formation of breaks and alkali-labile sites in the DNA of mice bone marrow cells. Exposure to the combination of the technical grade active ingredients captan and fludioxonil induced the breaks and alkali-labile sites in the DNA of animal bone marrow cells. The comparison of the genotoxicity assessment results obtained by the comet assay and results of analysis of the TBA-active product concentrations in the rat blood serum suggests that the observed primary DNA damage upon exposure to the captan and fludioxonil combination can be mediated by the induction of lipid peroxidation and subsequent interaction of the resulting products with nucleic acids.

Conclusion. The results indicate that some pesticides in combination can damage hereditary material in mammalian cells. Therefore, in order to ensure the safe use of pesticides for public health it is necessary to take into account the data on the genotoxicity not only of individual pesticide technical grade active ingredients but also their combinations.

Keywords: *genotoxicity; alkaline single-cell gel electrophoresis (DNA comet assay); pesticides; combined effect*

For citation: Averianova N.S., Kara L.A., Egorova O.V., Ilyushina N.A. The study of primary DNA damage in the bone marrow of mice under the combined action of pesticides. *Toksikologicheskii vestnik (Toxicological Review)*. 2021; 29(4): 14-21. DOI: <https://doi.org/10.36946/0869-7922-2021-29-4-14-21> (In Russian)

For correspondence: Nataliya S. Averianova, PhD, senior researcher of the department of genetic toxicology, FBES "F.F. Erisman Federal Scientific Center of Hygiene" of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 141014, Mytishchi, Moscow region, Russia. E-mail: averianovans@fferisman.ru

Information about the authors:

Averianova N.S., <https://orcid.org/0000-0002-2973-8776>;Kara L.A., <https://orcid.org/0000-0002-4635-2496>Egorova O.V., <https://orcid.org/0000-0003-4748-8771>;Ilyushina N.A., <http://orcid.org/0000-0001-9122-9465>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The study had no sponsorship. The work was carried out in the sectoral research program of Rospotrebnadzor for 2016–2020. "Hygienic substantiation of minimization of risks to the health of the population of Russia."

Author contribution: Averianova N.S. – collection and processing of material, literature review, writing the text; Kara L.A. – collection and processing of material, statistical analysis; Egorova O.V. – collection material, literature review, writing the text; Ilyushina N.A. – the concept and design of the study, literature review, writing the text. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version.

Received: June 8, 2021 / Accepted: July 29, 2021 / Published: August 30, 2021

Введение

Использование средств защиты растений является одним из самых распространённых способов повышения урожайности вследствие их эффективности, невысокой стоимости и простоты технологии использования [1].

В практике, принятой повсеместно в мире, нормирование пестицидов, как и многих других химических веществ, до сих пор основа-

но на изучении их изолированного действия. Между тем, специфика применения пестицидов (использование многокомпонентных препаратов или нескольких пестицидных формул одновременно на одних и тех же сельскохозяйственных культурах), присутствие других ксенобиотиков, загрязняющих многие среды, диктует необходимость интегрированного подхода к оценке опасности многокомпонентного действия пестицидов для человека.

Накопленный массив данных свидетельствует о том, что продукты сельскохозяйственного производства зачастую содержат одновременно остаточные количества нескольких пестицидов [2–3]. По данным EFSA почти половина проверенных в Европе образцов продуктов питания содержала пестициды, причем 27% образцов содержали, по меньшей мере, 2 пестицида, а 9% – не менее 4 [4]. Результаты исследования 2018 г. в США показали, что в 98% протестированных образцах клубники были обнаружены остаточные количества пестицидов: треть образцов содержала 10 и более пестицидов, а один образец – 22 [5].

Проведённые исследования на различных видах сельхозпродукции свидетельствуют, что одновременное присутствие остаточных количеств нескольких пестицидов в продуктах питания является повсеместным. Подобный «химический коктейль», попадая в организм млекопитающих, может вызывать многочисленные токсические эффекты, в том числе оказывать генотоксическое действие за счет прямого или опосредованного повреждения генетических структур, приводя к возникновению мутаций и нарушениям экспрессии генов.

Если мутагенная и канцерогенная активность отдельного действующего вещества детально изучается в обязательном порядке в ходе регистрационных испытаний для его последующей токсиколого-гигиенической оценки, то потенциальные негативные эффекты композиций, включающие несколько действующих веществ или препаративных форм, исследуются только в рамках научно-исследовательских работ.

Прогнозирование генотоксических эффектов смесей на основе исследований отдельных действующих веществ не представляется возможным, в то же время область токсиколого-гигиенических исследований по оценке эффектов, комбинированного действия пестицидов на сегодняшний день мало изучена [6].

Современная концепция оценки безопасности действующих веществ пестицидов включает исследования их генотоксической активности, проводимые с использованием стандартных тестов, которые позволяют регистрировать генные, хромосомные и геномные мутации в системах *in vitro* или *in vivo*¹.

¹ МУ 1.2.3364-16 «Оценка мутагенной активности пестицидов». М., 2016.

Начальным звеном действия генотоксикантов на генетические структуры клетки являются первичные повреждения молекулы ДНК, большая часть которых может быть исправлена в ходе репарации, однако часть повреждений может оставаться в клетке без исправления и инициировать формирование мутаций. Кроме того, в ходе самой репарации могут возникать ошибки, которые также приводят к мутациям.

Выявление первичных повреждений ДНК позволяет оценить ранние стадии генотоксического действия ксенобиотиков и их смесей. Для выявления разрывов в молекулах ДНК широко применяется метод «ДНК-комет». [7–9]. Указанный метод в щелочном варианте позволяет дополнительно обнаруживать щелочно-лабильные сайты.

Цель исследования – изучить первичные повреждения ДНК при комбинированном действии пестицидов.

При составлении комбинаций было выбрано 6 действующих веществ пестицидов, относящихся по характеру действия к фунгицидам, инсектицидам или гербицидам, в том числе имеющим ведущее значение по масштабам применения.

Материал и методы

Оценивали генотоксичность модельных комбинаций технических продуктов пестицидов: карбендазим/тирам (1:1), каптан/флудиоксонил (1:1), 2,4-Д-кислота/глифосат (1:12).

Животных получали из питомника Филиал «Андреевка» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Исследования одобрены локальным этическим комитетом ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора.

Эксперименты по оценке повреждений ДНК проводили на мышах линии CD-1 обоих полов 6–7-недельного возраста (не менее 5 особей в группе).

В качестве положительного контроля использовали метилметансульфонат в дозе 60 мг/кг массы тела, который вводили внутрибрюшинно. Группы животных отрицательного контроля получали подсолнечное масло, экспериментальные группы мышей – модельные комбинации пестицидов в виде суспензии в подсолнечном масле. Масло и комбинации пестицидов вводили внутривентрикулярно не менее чем в трех дозах 2 раза с интервалом в 24 ч. Вывод животных из эксперимента и сбор об-

разцов костного мозга проводили через 3,5 ч после последней обработки.

Использовали метод ДНК-комет в щелочном варианте^{2,3}. Готовили по 2 микропрепарата на каждую ткань каждого животного. Клетки лизировали при 4 °С не более 24 ч и подвергали релаксации (30 мин) и электрофорезу в камерах CSL-COM 20, охлаждаемых циркуляционным термостатом CSL-CHILLER, Cleaver Scientific, Великобритания, в течение 30 мин при начальном токе 300 мА и напряжении – 17В (0,7 В/см); нейтрализацию микропрепаратов по окончании электрофореза проводили в стандартном PBS (10 мин), фиксировали – в 75% этаноле в течение 10 мин. Микропрепараты окрашивали красителем SYBR Green I. Оценку ДНК-комет проводили на микроскопе Nikon Eclipse Ni-U, Япония, оборудованном цифровой видеокамерой Basler scout scA 1300–32fm, Германия) с помощью программы анализа изображений Comet Assay IV, производства Perceptive Instruments Ltd, Великобритания. В анализ брали только отдельно лежащие клетки без наложений. На каждом микропрепарате считали не менее 75 клеток (150 клеток на каждую ткань каждого животного). В качестве показателя уровня повреждений ДНК использовали процент ДНК в хвосте комет (%ДНК в хвосте). Отдельно подсчитывали количество клеток «ежей» (с содержанием ДНК в хвосте более 85%).

В качестве маркера перекисного окисления липидов оценивали концентрацию активных продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-АП), в сыворотке крови белых нелинейных крыс. Всего использовали по 24 животных в эксперименте (6 животных в группе (3 самки и 3 самца). Крысам контрольной группы внутрижелудочно вводили масло подсолнечное, животным опытной группы – суспензии исследуемых комбинаций дважды с интервалом 24 ч. Забор биоматериала проводили через 18–22 ч после последней обработки. Концентрацию ТБК-АП в сыворотке крови определяли, используя коммерческий набор «ТБК АГАТ», ООО «Агат-Мед», Россия, следуя прилагаемой инструкции. Измерения оптической плотности проводили на спектрофотометре Novaspec II, Pharmacia LKB.

Статистический анализ проводили с использованием программы SPSS Statistics v. 22.0

software (IBM Corporation, Нью-Йорк, США). Различия между группами считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Проверку нормальности распределения данных осуществляли методом Шапиро–Уилка, однородность дисперсии проверяли методом Ливиня. Средние значения медиан %ДНК в хвосте комет использовали для построения двухфакторной линейной регрессионной модели; сравнение с группами отрицательного контроля осуществляли с использованием непараметрического критерия Краскала–Уоллиса. Оценка наличия монотонного тренда изменения средних значений медиан %ДНК в хвосте с увеличением доз комбинации была проведена с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Результаты

В настоящем исследовании изучены комбинации пестицидов, которые либо входят в состав одной и той же препаративной формы (тирам+карбендазим, глифосат + 2,4-Д), либо применяются совместно в баковых смесях (каптан + флудиоксонил).

При исследовании всех трех комбинаций было показано отсутствие значимых различий между группами самцов и самок обработанных одной и той же дозой исследуемого вещества по показателю «% ДНК в хвосте» (карбендазим+тирам $p = 1,000$; каптан+флудиоксонил $p = 0,311$; 2,4-Д кислота+глифосат $p = 1,000$), что позволило для дальнейших расчетов объединить вместе массивы данных по самцам и самкам. Результаты оценки первичных повреждений ДНК в клетках костного мозга мышей после экспозиции с комбинациями пестицидов приведены в табл. 1.

Средняя частота атипичных комет «ежей» в группах обработки тремя комбинациями значимо не отличалась от частоты «ежей» в отрицательном контроле ($p > 0,05$).

Анализ данных, проведенный с использованием непараметрического критерия Краскала–Уоллиса не выявил статистически значимых изменений в показателе %ДНК в хвосте» после воздействия комбинации карбендазима и тирама по сравнению с отрицательным контролем ни в одной из групп ($p > 0,05$). Кроме того, не обнаружено роста уровня повреждений ДНК (средних значений медиан %ДНК в хвосте комет) с увеличением доз комбинации карбендазима и тирама.

Анализ результатов исследования индукции первичных повреждений ДНК при

² Test No. 489: *In Vivo* Mammalian Alkaline Comet Assay.

³ МР 4.2.0014-10 «Оценка генотоксических свойств методом ДНК-комет *in vitro*». М., 2010.

Влияние комбинаций технических продуктов пестицидов на уровень повреждений ДНК в клетках костного мозга мышей**Effect of combinations of pesticide technical grade active ingredients on the level of DNA damage in mouse bone marrow cells**

Дозы технических продуктов в комбинации, мг/кг массы тела	Количество животных	Средние значения		
		медиан %ДНК в хвосте комет (25–75% квантили)	%ДНК в хвосте комет ± стандартная ошибка	частоты атипичных комет «ежей» (%) ± стандартная ошибка
Карбендазим + тирам				
Отрицательный контроль	10	1,60 (1,22–2,17)	4,82 ± 0,64	0,92 ± 0,32
125 + 125	10	1,65 (1,38–1,84)	4,83 ± 0,36	1,00 ± 0,16
250 + 250	10	1,76 (1,13–2,66)	5,11 ± 0,56	2,23 ± 0,81
500 + 500	8	0,86 (0,03–1,71)	4,54 ± 0,39	1,00 ± 0,46
1000 + 1000	10	1,10 (0,32–1,73)	4,16 ± 0,17	0,59 ± 0,21
Положительный контроль	11	16,96 (12,82–24,68)	27,78 ± 2,82	7,63 ± 1,60
2,4-Д кислота + глифосат				
Отрицательный контроль	10	1,44 (1,06–2,37)	3,79 ± 0,35	0,74 ± 0,31
18,75 + 321,25	10	1,75 (1,51–2,05)	4,20 ± 0,19	0,60 ± 0,25
37,5 + 462,5	10	0,80 (0,63–1,31)	3,61 ± 0,37	0,64 ± 0,38
75 + 925	10	1,42 (1,11–1,60)	3,97 ± 0,40	0,10 ± 0,07
Положительный контроль	10	22,28 (20,89–26,75)	23,87 ± 1,14	9,76 ± 2,24
Каптан + флудиоксонил				
Отрицательный контроль	10	1,15 (0,89–1,93)	3,77 ± 0,30	0,60 ± 0,22
250 + 250	10	1,65 (1,28–2,26)	4,86 ± 0,24	1,53 ± 0,39
500 + 500	10	1,19 (0,76–1,86)	4,66 ± 0,40	1,68 ± 0,45
1000 + 1000	10	2,90 (2,32–4,36)*	5,18 ± 0,38*	1,25 ± 0,74
Положительный контроль	10	19,02 (17,25–20,60)	19,58 ± 0,56	6,32 ± 1,27

Примечание. * – статистически значимо ($p < 0,05$).

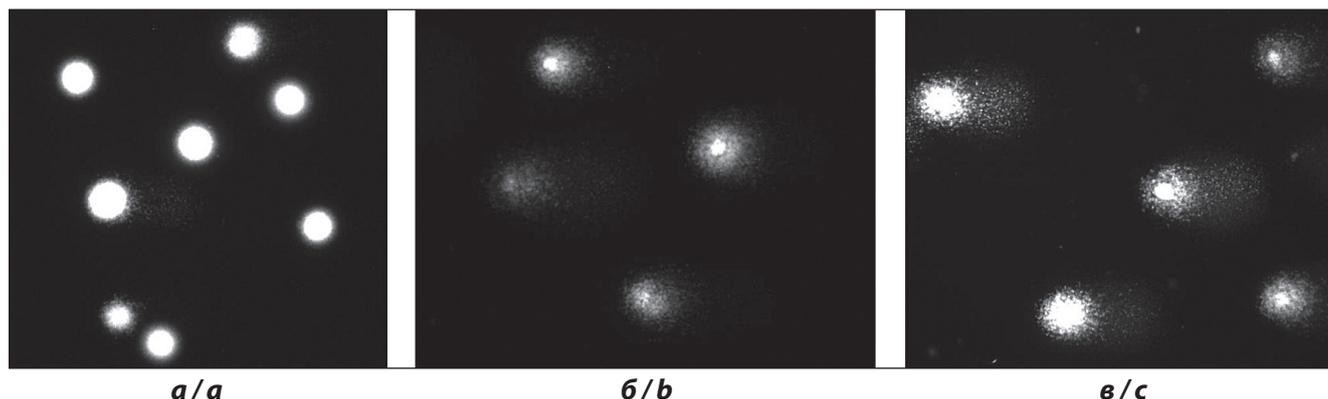
воздействии комбинации 2,4-Д-кислоты и глифосата показал, что значения интенсивности флуоресценции ДНК в хвосте комет (%ДНК в хвосте) в группах обработки смесью пестицидов значимо не отличались от значений интенсивности флуоресценции в группе отрицательного контроля в костном мозге мышей.

Технические продукты каптана и флудиоксонила при раздельном введении животным не вызывали повреждений ДНК. Однако при оценке влияния комбинации каптана и флудиоксонила на целостность молекул ДНК в клетках костного мозга мышей *in vivo* выявлено статистически значимое повышение показателя %ДНК в хвосте после воздействия комбинации в дозе 2000 мг/кг массы тела (1000+1000 мг/кг массы тела) по сравнению с отрицательным контролем (для средних значений $p = 0,024$; для средней медиан $p = 0,003$) (см. рисунок, табл. 1). Кроме того, выявлена статисти-

чески значимая зависимость %ДНК в хвосте комет от дозы смеси каптана и флудиоксонила, вводимой мышам (для среднего значения $p = 0,032$; для средних значений медиан $p = 0,002$).

Поскольку одной из причин повреждения молекул ДНК могут быть радикалы, генерируемые при перекисном окислении липидов, нами было проведено изучение содержания ТБК-АП в сыворотке крови лабораторных животных после экспозиции с комбинациями каптана и флудиоксонила, а также тирама и карбендазима.

Внутрижелудочное введение крысам смеси каптана и флудиоксонила в дозах 250+250, 500+500 и 1000+1000 мг/кг массы тела сопровождалось повышением уровня содержания продуктов перекисного окисления липидов с 5,8 мкмоль/л (у интактных животных) до 20,3 мкмоль/л при введении комбинации пестицидов в дозе 1000+1000 мг/кг массы тела (табл. 2).



Изображения ДНК-комет при щелочном гель-электрофорезе. Окраска SYBR Green I, ув. 200.

a – микропрепарат от интактного животного группы отрицательного контроля; *б* – микропрепарат от животного из группы обработанной комбинацией пестицидов каптан + флудиоксонил в дозе (1000+1000) мг/кг массы тела; *в* – микропрепарат от животного из группы из группы положительного контроля (ММС 60 мг/кг массы тела, в/брюшинно).

Images of DNA comets during alkaline gel electrophoresis. SYBR Green I coloring, $\times 200$.

a – micropreparation from an intact animal of the negative control group; *b* – micropreparation from an animal from the positive control group (MMS 60 mg/kg bw, peritoneally); *c* – micropreparation from an animal from the group of the treated combination of pesticides captan + fludioxonil at a dose of (1000 + 1000) mg/kg bw.

Таблица 2 / Table 2

Концентрация ТБК-активных продуктов (ТБК-АП) в сыворотке крови лабораторных животных после введения модельных комбинаций пестицидов
Concentration of TBA-active (TBA-AP) products in the blood serum of laboratory animals after the administration of model combinations of pesticides

Доза комбинации пестицидов, мг/кг массы тела	ТБК-АП, мкмоль/л \pm стандартная ошибка	
	Тирам + карбендазим	Каптан + флудиоксонил
Отрицательный контроль	5,80 \pm 0,89	5,80 \pm 0,89
250 + 250	6,61 \pm 0,74	12,82* \pm 2,31
500 + 550	7,16 \pm 0,14	15,17* \pm 1,15
1000 + 1000	7,29 \pm 1,10	20,20* \pm 2,42

Примечание. * значимо выше отрицательного контроля при $\alpha = 0,05$.

Методом дисперсионного анализа были обнаружены значимые отличия между концентрациями ТБК-АП в сыворотке крыс в контрольной группе, получавших растительное масло, и в сыворотке животных, которым вводили смесь каптана и флудиоксонила ($p \leq 0,017$). При этом была обнаружена статистически значимая зависимость содержания ТБК-АП от дозы комбинации пестицидов ($p = 0,000$).

Обсуждение

Полученные результаты сопоставлены с имеющимся в литературе данными о генотоксичности пестицидов, изученных в настоящем исследовании.

Установлено, что карбендазим вызывает анеугенные эффекты [10–11]. В ряде исследований *in vivo* найдена взаимосвязь

между действием карбендазима и развитием гепатоцеллюлярных опухолей [12]. Мутагенная активность тирама и каптана показана в многочисленных тестах *in vitro* на индукцию генных мутаций и хромосомных aberrаций [13, 14]. В тоже время, согласно спецификациям ФАО/ВОЗ и EFSA, не выявлена генотоксичность данных пестицидов *in vivo* [15, 16]. В отношении 2,4-Д существуют многочисленные публикации о положительных генотоксических ответах, обнаруженных на лабораторных животных и клеточных линиях [17]. Выявлено канцерогенное действие 2,4-Д на животных (увеличение частоты возникновения ретикулярноклеточной саркомы, астроцитомы головного мозга [18]. Глифосат – один из самых распространенных в мире гербицидов, вопросы опасности которого неод-

нократно поднимались экспертным сообществом. Согласно FAO/WHO, глифосат не обладает генотоксичностью в тестах *in vivo* и *in vitro* [19]. По данным ряда литературных источников, глифосат вызывает повышение частоты образования микроядер в исследованиях на культивируемых клетках буккального эпителия человека [20] в костном мозге мышей [21], в лимфоцитах людей, подвергавшихся воздействию глифосатсодержащих препаратов при опрыскивании плантаций [22]. В 2015 г. эксперты МАИР классифицировали глифосат наряду с малатионом и диазиноном как «возможно канцерогенные для человека» — класс 2А [23].

Согласно имеющимся в литературе данным, обработка каптаном вызывала образование одонитных разрывов в ДНК и поперечных сшивок ДНК-белок, и, как следствие, индуцировала эксцизионную репарацию в диплоидных фибробластах человека [24]. С другой стороны, после работы с каптаном в течение одного дня у сельскохозяйственных работников не обнаружено статистически значимой индукции повреждений ДНК в мононуклеарных лейкоцитах [25]. Сведения о влиянии флудиоксонилла на ДНК в литературе ограничены, по данным EFSA, этот пестицид не обладает генотоксичностью [26–28]. При исследовании генотоксичности смесей пестицидов, присутствующих в продуктах питания во Франции, показано, что смесь ципродинил + флудиоксанил + лямда-цигалотрин индуцировала повреждения ДНК в первичных гепатоцитах человека, выявляемые методом ДНК-комет [29].

Способность смеси каптана и флудиоксонилла индуцировать повреждения ДНК ранее не изучалась.

Проведённые в данном исследовании эксперименты показали, что смеси 2,4-Д-кис-

лоты + глифосата и тирама + карбендазима не вызывают образования разрывов и щелочеллабильных сайтов в ДНК клеток костного мозга мышей.

Экспозиция с комбинацией технических продуктов каптана и флудиоксонилла индуцировала образование разрывов и щелочеллабильных сайтов в ДНК клеток костного мозга мышей. Сопоставление результатов оценки генотоксичности методом ДНК-комет и анализа концентрации ТБК-АП в сыворотке крови лабораторных животных позволяет сделать предположение, что наблюдаемые первичные повреждения ДНК при экспозиции с комбинацией каптана и флудиоксонилла могут быть опосредованы индукцией перекисного окисления липидов и последующим взаимодействием образующихся продуктов с нуклеиновыми кислотами. Полученные результаты согласуются с данными ряда экспериментальных работ, в которых показано, что острая и хроническая интоксикация пестицидами сопровождается патологическими процессами, приводящими к окислительно-му стрессу [30].

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что некоторые пестициды при комбинированном действии могут повреждать наследственный материал в клетках млечопитающих. Поэтому с целью обеспечения безопасного для здоровья населения применения пестицидов при проведении токсиколого-гигиенической оценки их опасности необходимо учитывать данные о генотоксичности не только отдельных технических продуктов действующих веществ пестицидов, но и их комбинаций, препаративных форм и баковых смесей.

ЛИТЕРАТУРА

(пп. 4, 6–9, 11, 13–30 см. в References)

1. Азаров О.И., Цой В.Г., Чекарчев П.А., Юшков А.Ю. *Химические средства защиты растений: мировой и российский рынок*. М.: ООО «Леовинг»; 2018, 112 с.
2. Бычков К.В. Уравнение с двумя известными. *Контроль качества продукции*. 2014; 11: 35–41.
3. Шубина А.Г., Синютина С.Е., Шубин Р.А. Содержание пестицидов в зерне злаковых культур и пахотных почвах ряда районов Тамбовской области. *Вестник Тамбовского государственного технического университета*. 2009; 15 (1): 208–11.
5. Воданюк С. Сколько пестицидов остается в овощах и фруктах. Доступно: <https://rosorganic.ru/news/how-much-pesticide-remains-in-veget.html>. Ссылка активна на 20.04.2021.
11. Илюшина Н.А. Цитогенетические эффекты карбендазима в клетках костного мозга мышей. *Генетика*. 2020; 56 (10): 1150–60. DOI: 10.31857/S001667582009009X.
30. Бубало Н.Н., Балан Г.М. Поражение гепатобилиарной системы, окислительный стресс и дифференцированное применение антиоксидантов у больных при острых и хронических интоксикациях пестицидами. *Украинский журнал современных проблем токсикологии*. 2017; 4 (80): 45–55.

REFERENCES

1. Azarov O.I., Coj V.G., Chekmarev P.A., Jushkov A.Ju. *Chemical plant protection products: the world and Russian market*. [Himicheskie sredstva zashchity rastenij mirovoj i rossijskij rynek] Moscow: ООО «Leoving»; 2018, 112. (in Russian)
2. Bychkov K.V. Equation with two unknowns. *Product quality control [Kontrol kachestva produkcii]*. 2014; 11: 35–41. (in Russian)
3. Shubina A.G., Sinyutina S.E., Shubin R.A. The content of pesticides in grain of cereals and arable soils of a number of districts of the Tambov region. *Vestnik TGTU*. 2009; 15 (1): 208–11. (in Russian)
4. The 2016 European Union report on pesticide residues in food. *European Food Safety Authority*. 2018; 16 (7): 1–139. DOI: 10.2903/j.efsa.2018.5348

5. Vodanyuk S. *How many pesticides remain in vegetables and fruits?* Available at: <https://rosorganic.ru/news/how-much-pesticide-remains-in-veget.html>. Accessed 20.04.2021. (In Russian)
6. Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment. Risk Assessment of Mixtures of Pesticides and Similar Substances. Available at: <https://cot.food.gov.uk/sites/default/files/cot/reportindexed.pdf>. Accessed 20.04.2021.
7. González M., Soloneski S., Reigosa M.A., Larramendy M.L. Genotoxicity of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and a commercial formulation, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid dimethylamine salt. I. Evaluation of DNA damage and cytogenetic endpoints in Chinese Hamster ovary (CHO) cells. *Toxicology in vitro*. 2005; 19(2): 289-97. DOI: 10.1016/j.tiv.2004.10.004
8. Rai B., Mercurio S.D. Environmentally relevant exposures of male mice to carbendazim and thiram cause persistent genotoxicity in male mice. *Environmental Science and Pollution Research*. 2020; 27: 10629-41. DOI: 10.1007/s11356-019-07088-5
9. Rahman M.F., Mahboob M., Danadevi K., Saleha B.B., Grover P. Assessment of genotoxic effects of chloropyrifos and acephate by the comet assay in mice leucocytes. *Mutation research*. 2002; 516 (1-2): 139-47. DOI: 10.1016/S1383-5718(02)00033-5
10. Sarraf A.M., Bentley K.S., Fu L.J., O'Neil R.M., Reynolds V.L., Stahl R.G. Evaluation of benomyl and carbendazim in the vivo aneuploidy/micronucleus assay in BDF1 mouse bone marrow. *Mutation Research*. 1994; 310 (1): 143-9. DOI: 10.1016/0027-5107(94)90018-3
11. Ilyushina N.A. Cytogenetic effects of carbendazim on mouse bone marrow cells. *Genetica*. 2020; 56 (10): 1193-202. DOI: 10.1134/S1022795420090094 (in Russian)
12. McCarroll N.E., Protzel A., Ioannou Y., Frank S.H.F., Jackson M.A., Waters M.D. et al. A survey of EPA/OPP and open literature on selected pesticide chemicals: III. Mutagenicity and carcinogenicity of benomyl and carbendazim. *Mutation Research*. 2002; 512 (1): 1-35. DOI: 10.1016/S1383-5742(02)00026-1
13. Arce G.T., Gordon E.B., Cohen S.M., Singh P. Genetic toxicology of folpet and captan. *Critical Reviews in Toxicology*. 2010; 40 (6): 546-74. DOI: 10.3109/10408444.2010.481663
14. The European Chemicals Agency. Thiram. Registration dossier. Available at: <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/11311/4/21>. Accessed 20.04.2021.
15. European Food Safety Authority. Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance thiram. Available at: <https://efsas.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2017.4700>. Accessed 20.04.2021.
16. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Report of the 1995 Joint FAO/WHO meeting of experts for captan. Available at: https://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Reports_1991-2006/Report1995.pdf. Accessed 20.04.2021.
17. Bukowska B. Toxicity of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid – Molecular Mechanisms. *Polish Journal of Environmental Studies*. 2006; 15 (3): 365-74.
18. Loomis D., Guyton K.Z., Grosse Y., El Ghissasi F., Bouvard V., Benbrahim-Talla L. et al. Carcinogenicity of lindane, DDT, and 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid. *The Lancet Oncology*. 2005; 16 (8): 891. DOI: 10.1016/S1470-2045(15)00081-9
19. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO specifications and evaluations for glyphosate. Available at: https://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Specs/Glypho_2014.pdf. Accessed 20.04.2021.
20. Koller V.J., Fühacker M., Neresyan A., Mišik M., Eisenbauer M., Knasmueller S. Cytotoxic and DNA-damaging properties of glyphosate and Roundup in human-derived buccal epithelial cells. *Archives of Toxicology*. 2012; 86 (5): 805-13. DOI: 10.1007/s00204-012-0804-8
21. Mañas F., Peralta L., Raviolo J., Ovando H.G., Weyers A., Ugnia L. et al. Genotoxicity of glyphosate assessed by the comet assay and cytogenetic tests. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2009; 28 (1): 37-41. DOI: 10.1016/j.etap.2009.02.001
22. Bolognesi C., Carrasquilla G., Volpi S., Solomon K.R., Marshall E.J. Biomonitoring of genotoxic risk in agricultural workers from five Colombian regions: association to occupational exposure to glyphosate. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*. 2009; 72 (15-16): 986-97. DOI: 10.1080/15287390902929741
23. Guyton K.Z., Loomis D., Grosse Y., El Ghissasi F., Benbrahim-Talla L., Guha N. et al. International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group IIF. Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. *The Lancet Oncology*. 2015; 16 (5): 490-1. DOI: 10.1016/S1470-2045(15)70134-8
24. Snyder R. D. Effects of Captan on DNA and DNA metabolic processes in human diploid fibroblasts. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 1992; 20 (2): 127-33. DOI: 10.1002/em.2850200208
25. Lebaillly P., Devaux A., Pottier D., De Meo M., Andre V., Baldi I. et al. Urine mutagenicity and lymphocyte DNA damage in fruit growers occupationally exposed to the fungicide captan. *Occupational and environmental medicine*. 2003; 60 (12): 910-7. DOI: 10.1136/oem.60.12.910
26. European Food Safety Authority. Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance fludioxonil. Available at: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/rn-110>. Accessed 20.04.2021.
27. Environmental Protection Agency. Fludioxonil (Novartis). Pesticide Tolerances. Final Rule. Federal Register Online via GPO Access. 1998; 63 (194): 53820-6.
28. European Food Safety Authority. Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance fludioxonil. Available at: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/rn-110>. Accessed 20.04.2021.
29. Graillot V., Takakura N., Hegarat L.L., Fessard V., Audebert M., Cravedi J.P. Genotoxicity of pesticide mixtures present in the diet of the French population. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 2012; 53(3): 173-84. DOI: 10.1002/em.21676.
30. Bubalo N.N., Balan G.M. Lesion of the hepatobiliary system, oxidative stress and differentiated use of antioxidants in patients with acute and chronic intoxication with pesticides. *Ukrainian Journal of Modern problems of toxicology [Ukrainskij zhurnal sovremennykh problem toksikologii]*. 2017; 4 (80): 45-55. (In Russian)

ОБ АВТОРАХ:

Аверьянова Наталья Сергеевна (Averianova Natalya Sergeevna), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела генетической токсикологии ФБУН «ФНЦГ им.Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, г. Мытищи Московской области. E-mail: averianovans@fferisman.ru

Кара Лилия Александровна (Kara Liliya Aleksandrovna), младший научный сотрудник отдела генетической токсикологии ФБУН «ФНЦГ им.Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, г. Мытищи Московской области. E-mail: karala@fferisman.ru

Егорова Ольга Валерьевна (Egorova Olga Valeryevna), кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела генетической токсикологии ФБУН «ФНЦГ им.Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, г. Мытищи Московской области. E-mail: egorovaov@fferisman.ru

Илюшина Наталия Алексеевна (Ilyushina Nataliya Alekseyevna), доктор биологических наук, заведующая отделом генетической токсикологии ФБУН «ФНЦГ им.Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, г. Мытищи Московской области. E-mail: iliushinana@fferisman.ru

